

Aus dem
Pharmakologischen Institut der Universität Marburg
Direktor: Prof. Dr. W. Schmid

**H³-Thymidin- und Mitose-Index bei der Maus
in Abhängigkeit von Tagesrhythmus,
Geschlecht, Alter und bei der Einwirkung
Leberwachstum Induzierender Fremdstoffe**

**INAUGURAL-DISSERTATION
zur Erlangung
des Doktorgrades der Zahnheilkunde
der Hohen Medizinischen Fakultät
der Philipps-Universität zu Marburg**

**Vorgelegt von
Klaus Eicher
Zahnarzt
aus Kaiserslautern**

Marburg/Lahn 1968



Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41554411_0026

Aus dem
Pharmakologischen Institut der Universität Marburg
Direktor: Prof. Dr. W. Schmid

**H³-Thymidin- und Mitose-Index bei der Maus
in Abhängigkeit von Tagesrhythmus,
Geschlecht, Alter und bei der Einwirkung
Leberwachstum induzierender Fremdstoffe**

INAUGURAL-DISSERTATION
zur Erlangung
des Doktorgrades der Zahnheilkunde
der Hohen Medizinischen Fakultät
der Philipps-Universität zu Marburg

Vorgelegt von
Klaus Eicher
Zahnarzt
aus Kaiserslautern

Marburg/Lahn 1968



Angenommen von der Medizinischen Fakultät

der Universität Marburg am: 16. 12. 1968

Gedruckt mit Genehmigung der Fakultät

Dekan: Prof. Dr. W. Straub

Referent: Prof. Dr. W. Schmid

Correferent: Prof. Dr. Dr. H. Heuser

I	<u>EINLEITUNG</u>	Seite 1
II	<u>METHODIK</u>	3
	A. Tiermaterial	
	B. Behandlung der Tiere	
	1. Circadianrhythmusversuche	
	2. Alters- und Geschlechtsunterschiede	
	3. Chronische Pharmakabehandlung	4
	C. Histologische und phototechnische Bearbeitung	5
	D. Mikroskopische Auswertung	6
	E. Statistische Auswertung	7
III	<u>VERSUCHSERGEBNISSE</u>	10
	A. Circadianrhythmusversuche	
	B. Alters- und Geschlechtsunterschiede	16
	C. Chronische Pharmakabehandlung	21
	Kurzzeitversuche	
	Langzeitversuche	24
IV	<u>DISKUSSION</u>	33
V	<u>ZUSAMMENFASSUNG</u>	35
VI	<u>TABELLENANHANG</u>	
VII	<u>LITERATURVERZEICHNIS</u>	

I. EINLEITUNG

Für Untersuchungen über den Umsatz der Desoxyribonucleinsäure (DNS) im Zellkern ist die Verwendung von radioaktivem Thymidin allgemein eingeführt. Bei der Auswertung gibt es prinzipiell zwei Möglichkeiten: die eine ist der biochemische Weg der Isolierung der DNS und Bestimmung ihrer Aktivität; die andere ist die Verwendung histologischer Methoden unter Heranziehung der Autoradiographie. Der letzte Weg hat den Vorteil, dass er eine Differenzierung der Zellen und eine Lokalisation des erhöhten DNS-Umsatzes erlaubt, während bei der biochemischen Aufarbeitung stets offen bleiben muss, in welchen Zellen sich der veränderte DNS-Umsatz abspielt.

In der vorliegenden Arbeit wurde die autoradiographische Methode verwendet, um Einblicke in die DNS-Synthese am Normaltier während des Wachstums und innerhalb des Tagesrhythmus zu erhalten. Für beides sind für die Maus kaum Unterlagen vorhanden. Sie sind aber erforderlich für die Beurteilung von organwachstumsanregenden Pharmaka (KUNZ), die im zweiten Teil der Arbeit untersucht wurden.

Der Schwerpunkt der untersuchten Organe lag bei der Leber. Daneben wurden auch Haut, Peritoneum und Magen geprüft.

Wenn man ein vollständiges Bild über die Zellvermehrung eines Organs bekommen will, ist es notwendig, ausser dem sogenannten Thymidin-Index auch den Mitose-Index zu erfassen. Dies ist besonders wichtig für die Leber, da diese in der Spätperiode ihres Wachstums keine reine mitotische Zellteilung mehr aufweist, sondern sich vorwiegend amitotisch vergrössert. Hier kann die Differenzierung nach Thymidin- und Mitose-Index wichtige Hinweise für die Art des Organwachstums liefern.

Die Erfassung eines Tagesrhythmus der DNS-Bildung in der Leber speziell der Maus ist von besonderer Wichtigkeit, da diese Tierart bemerkenswert deutliche tagesrhythmische Schwankungen an vielen Organen (BÄNDER, BARNUM) aufweist. So hat insbesondere die Leber einen ausgesprochenen 24-Stunden-Rhythmus in Gewicht, Fett- und Glykogengehalt (NIESSING); auch die Fermentaktivität ist solchen Schwankungen unterworfen. Für vergleichende Unter-

suchungen ist es deshalb wichtig, einen definierten Ausgangspunkt zu gewinnen.

Die Untersuchungen über die Wachstumsanregung umfasst 1. die Wachstumsanregung unter der chronischen Einwirkung von Phenobarbital und 2. die Einwirkung des Carcinogens Diaethylnitrosamin (DÄNA). Weiterhin wurde die Frage einer Kombinationswirkung von DÄNA mit Phenobarbital und anderen lebervergrößernden Substanzen untersucht.

II. Methodik

A. Tiermaterial

Zu allen Tierversuchen wurden Albinomäuse des Reinzuchtstammes NMRI der Versuchstierzucht S. Ivanovas, Kisslegg/Allgäu verwandt. Die Tierhaltung erfolgte im Tageslichtstall (23-24° C Raumtemperatur) in Macrolonkäfigen; als Nahrung diente Sniff Mäusetrockenfutter der Fa. Plange, Soest, und Wasser aus Saugflaschen ad libitum.

B. Behandlung der Tiere

1. Circadianrhythmusversuch bei Normaltieren

Tageszeitliche Schwankungen der Lebergrösse, des Gewichtes, der Mitosehäufigkeit sowie der DNS-synthetisierenden Zellen wurden an 90 Normaltieren geprüft.

Im Februar 1966 wurden 36 Tiere (nach den Angaben von PILGRIM, ERB und MAURER) durch intraperitoneale Injektion von 50 μ C H^3 -Thymidin pro Maus 40 Minuten vor der Dekapitation vorbereitet. Je drei Tiere wurden in zweistündigem Abstand (0, 2, 4, 6 ... Uhr) getötet.

Im März 1966 wurden 54 Mäuse in drei Gruppen zu je 18 Tieren, nach Vorbehandlung mit je 50 μ C H^3 -Thymidin 40 Minuten, bzw. 15 μ g Colchizin 4 Stunden vor der Dekapitation, um 0, 4, 8 .. Uhr getötet.

1. Gruppe (H^3) : nur H^3 -Thymidin
2. Gruppe (C+ H^3) : Colchizin + H^3 -Thymidin
3. Gruppe (C) : nur Colchizin

2. Alters- und Geschlechtsunterschiede

Es wurden fünf Gruppen geprüft:

I 5 männliche junge Tiere	5 - 6 g Körpergewicht	} 8 Tage alt
II 5 weibliche junge Tiere	5 - 6 g Körpergewicht	
III 5 männliche alte Tiere	28 -32 g Körpergewicht	} 14 Monate alt
IV 5 weibliche alte Tiere	30 -32 g Körpergewicht	
V 5 über ein Jahr alte männliche Tiere	42 -54 g Körpergewicht	18 Monate alt

Nach vorheriger (40 Minuten) intraperitonealer Injektion von $50 \mu\text{C H}^3$ -Thymidin (III, IV und V), bzw. $25 \mu\text{C}$ (I und II) erfolgte morgens um acht Uhr Tötung durch Dekapitation.

3. Chronische Pharmakabehandlung

a. Kurzzeitversuch (24 Stunden bis 20 Tage)

Die Testsubstanzen wurden an 15 Tieren in fünf Gruppen zu drei Tieren untersucht:

Na_2HPO_4 0.2 % = 400 mg/kg Tgl.

Phenobarbital 0.12% = 240 mg/kg tgl.

wurden im Trinkwasser ad libitum angeboten.

Na_2HPO_4 0.2 % = 400 mg/kg tgl.

Phenobarbital 0.1 % = 200 mg/kg tgl.

intraperitoneal injiziert.

Nach 24 und 48 Stunden und nach 5, 10 und 20 Tagen erfolgte die Markierung mit $50 \mu\text{C H}^3$ -Thymidin 40 Minuten vor der jeweiligen Tötung mittags um 12 Uhr

b. Langzeitversuche (18 und 30 Wochen)

Die wasserlöslichen Substanzen wurden im Trinkwasser appliziert:

	angebotene Tagesdosis	mittlere aufgenommene Tagesdosis
Diaethylmitrosamin (DÄNA)	0.007% = 14 mg/kg	7 mg/kg
Phenobarbital (Ph)	0.12 % = 240 mg/kg	180 mg/kg
Na_2HPO_4 (N)	0.2 % = 400 mg/kg	420 mg/kg

(Die real aufgenommene Tagesdosis wurde durch Rückwiegen der Trinkflüssigkeit unter Zugrundelegung des täglich ermittelten Körpergewichtes bestimmt.)

Die zwei Gasnarkotika wurden durch Inhalation appliziert:

Halothan (H)	werktäglich	0.7% 1 Stunde	50%ige Seitenlagekon-
Methoxyfluoran (Mf)	"	0.4% 1 Stunde	zentration

Phenobarbital, Na_2HPO_4 , Halothan und Methoxyfluoran wurden mit DÄNA zu nachstehenden Gruppen kombiniert. (Applikationsform

und Substanzangebot wie bei den vorhergehenden Versuchen.)

Die durchschnittlich aufgenommene Tagesdosis betrug:

DÄNA

DÄNA + Phenobarbital	7.2 mg/kg - 120 mg/kg Ph
DÄNA + Na ₂ HPO ₄	7.2 mg/kg - 206 mg/kg N
DÄNA + Halothan	7.1 mg/kg - 0.7% H
DÄNA + Phenobarbital + Halothan	6.8 mg/kg - 117 mg/kg Ph - 0.7% H
DÄNA + Methoxyfluoran	7.5 mg/kg - 0.4 % Mf

Die Tötung aller Tiere erfolgte um 8 Uhr, nachdem 40 Minuten zuvor 50 μ C H³-Thymidin pro Tier intraperitoneal injiziert worden waren. Von jeder Gruppe kamen fünf Tiere zur Auswertung.

C. Histologische und phototechnische Bearbeitung

Nach Dekapitation und Entblutung der Tiere wurde ein Stück Bauchhaut und Peritoneum excidiert, sowie Magen, Leber, Speicheldrüsen, Milz und Nieren entnommen und in einem Gemisch von 0.5% Trichloressigsäure und 6% Formalin unter Zusatz von 0.5 mg/ ml inaktivem Thymidin fixiert.

Die Leber wurde vor der Fixierung von Zwerchfell und grossen Gefässen befreit, gewogen und das relative Lebergewicht (mg Lebergewicht / g Körpergewicht) bestimmt.

In der vorliegenden Arbeit wurden Haut, Peritoneum, Magen, Leber und bei einzelnen Kollektiven die Speicheldrüsen untersucht; Leber und Niere des Langzeitversuches gelangten durch einen anderen Untersucher (STAUDT) zur Auswertung.

Die Beurteilung der Organe der Gruppe 2. wurde an Gefrierschnitten (Leitz-Gefrierschnitt-Mikrotom), die der übrigen Versuche an 5 μ dicken Paraffinschnitten (hergestellt von Dr. Thomas, Pathologisches Institut, Bonn, durchgeführt.

Zur Herstellung von Autoradiogrammen wurde ein in kleine Rechtecke geteilter Stripping-Film (KODAK AR.10) in 20° C warmem Wasser von der Glasplatte gelöst und mit Hilfe zweier Pinzetten auf den Objektträger, die lichtempfindliche Seite dem Präparat zugewandt, aufgezogen. Nach zweiwöchiger Exposition in absoluter Dunkelheit wurde die Entwicklung und Fixierung nach vorgeschriebenem Schema vorgenommen.

Die Präparate wurden für die autoradiographische Auswertung mit Hämatoxylin-Eosin und zur Auszählung der Mitosen mit PAS gefärbt.

D. Mikroskopische Auswertung

Zur Zählung von Mitosen und DNS-synthetisierenden Zellen diente das Ortholux-Mikroskop der Fa. Leitz, Wetzlar, mit einer Objektivvergrößerung von 1:100 Olimmersion, Okular Periplan x8, in Verbindung mit dem Leukodiff-MS-Registriergerät der Fa. Boskamp, Bonn.

Zur Auszählung gelangten:

bei der Leber	770 Gesichtsfelder
bei der Haut	200 "
beim Peritoneum	200 "
beim Vormagen	100 "
beim Drüsenmagen	50 "
bei der Speicheldrüse	100 "

Damit war ein repräsentativer Gewebsausschnitt der Präparate erfasst. Bewusst ignoriert wurden Gesichtsfelder mit auffallend angehäuften Artefakten und Nulleffekten, auch Gesichtsfelder mit periportalen Bezirken, Narbengewebe und ähnlichen Unregelmässigkeiten.

Als markiert galten alle Zellen, bei denen wenigstens zehn Silberkörner registriert werden konnten.

Die Registrierbreite für Mitosen wurde auf die frühe Anaphase bis zur späten Metaphase festgelegt.

Bei der Leber wurden vor der Erfassung der markierten Zellen und der Mitosen als Grundlage für die Indexberechnung in 20 Gesichtsfeldern die Parenchymkerne insgesamt und die doppelkernigen Leberzellen gezählt, auf 770 Gesichtsfelder umgerechnet und aus der Differenz beider Werte die reale Leberzellzahl für diesen Flächenbereich ermittelt.

Ausserdem wurde die Gesamtzahl der Extraparenchymzellen in 20 Gesichtsfeldern festgestellt und ebenfalls auf 770 Gesichtsfelder ergänzt.

Bei der Haut erstreckte sich der Zählbereich von der Epidermis bis in die Hautanhangsgebilde.

Beim Vormagen wurde der gesamte Wandquerschnitt zwischen Lumeninnenseite und Muscularis erfasst.

In gleicher Weise wurde beim Drüsenmagen vorgegangen; um einheitliche Bedingungen zu erfüllen, wählte man jeweils einen etwa fünf Gesichtsfelder hohen Wandabschnitt, der von Drüsenquerschnitten möglichst frei war.

Die Auszählung eines Präparates dauerte zwischen 30 und 90 Minuten.

E. Statistische Auswertung

Arithmetisches Mittel: Körpergewicht, Lebergewicht und Indexwerte sind im arithmetischen Mittel angegeben.

Index-Werte: H^3 -Index und Mitose-Index sind die prozentualen Anteile der markierten, bzw. in Mitose befindlichen Zellen.

Berechnung des mittleren Fehlers (Streuung): Die Berechnung des mittleren Fehlers der Mittelwerte erfolgte für alle Versuchsgruppen nach der Formel

$$\sigma_m = \sqrt{\frac{\sum (x_i)^2 - \sum x_i \cdot \bar{x}}{n(n-1)}}$$

$m, \bar{x}$ = Mittelwert

x_i = Einzelwert

n = Anzahl der Einzelwerte

Statistische Sicherung. Die statistische Sicherung der Differenzen zweier Kollektivmittelwerte wurde nach der t-Verteilung von Student ermittelt:

$$t = \frac{(\sum x^2 - \bar{x} \cdot \sum x) (\sum x'^2 - \bar{x}' \cdot \sum x')}{n + n' - 2} \cdot \frac{n + n'}{n \cdot n'}$$

$\bar{x}$ = Gruppenmittelwert n = Anzahl der Einzelwerte

$\bar{x}'$ = Vergleichsmittelwert n' = Anzahl der Vergleichswerte

Die p-Werte (Wahrscheinlichkeit) wurden den Geigy-Tabellen entnommen. Als statistisch sicher galt wegen der kleinen Kollektive der Wert von $2p < 0.05$ (95% Wahrscheinlichkeit). Für Kollektive mit einseitiger Vertrauensgrenze ergab sich die Signifikanz aus dem einfachen $p\text{-Wert} < 0.05$.

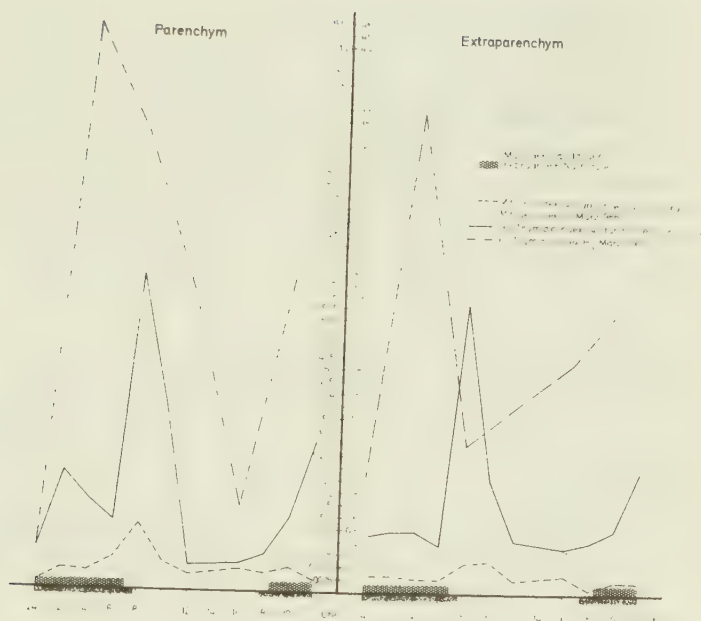


Abb. 1

Tagésrhythmische Schwankungen von H^3 -Thymidin- und Mitose-
Index (im Februar und März 1966)

III. VERSUCHSERGEBNISSE

A. Circadianrhythmusversuch bei Normaltieren

1. 24-Stunden-Versuch mit H^3 -Thymidin Markierung (Februar 1966) (Abb.1-5, Tab.1)

Parenchym.

Der H^3 -Thymidin-Einbau zeigt um 24 Uhr einen H^3 -Index von 0.082. Anschließend steigert sich die DNS-Synthese auf 0.633 um 8 Uhr (1.Gipfel); um 6 Uhr ist ein leichter Abfall (0.137) zu verzeichnen. Darauf folgt eine deutliche Abnahme der Aktivität, die um 12 Uhr nur noch 0.049 beträgt. Bis 22 Uhr ist eine stetige Zunahme (0.3) zu verzeichnen, so daß sich für den Kurvenverlauf unter Berücksichtigung des wesentlich niedrigeren Wertes um 24 Uhr ein 2. Gipfel ergibt. Beide Gipfel, um 8 Uhr und um 22 Uhr sind gegen 24 Uhr und 12 Uhr signifikant, auch gegenseitig.

Die Mitosehäufigkeit hat ihren maximalen Wert von 0.13 um 8 Uhr und verläuft zwischen 12 Uhr mittags und 4 Uhr morgens relativ konstant bei Werten um 0.03. Die Mitose-Spitze ist statistisch sicher gegen 12 und 24 Uhr.

Extraparenchym.

Analog zum Parenchym findet sich bei H^3 -Index ein erster höherer Gipfel um 8 Uhr mit 2.332 (gegenüber allen übrigen Werten ist $p < 0.05$) und ein zweiter Gipfel um 22 Uhr mit 0.901 ($p < 0.0125$).

Auch die Mitoseleistung verhält sich bei diesem Zelltyp entsprechend dem Parenchym mit Steigerung nach 8 Uhr (0.2314) und 10 Uhr (0.2613) (beide $p < 0.001$ gegen 24 Uhr), während sich die übrigen Tageswerte um 0.1 bewegen.

2. 24-Stunden-Versuch mit H^3 -Thymidin Markierung (März 1966) (Abb.1, Tab.2)

Parenchym.

Beim Parallelversuch im März finden sich für den H^3 -Index wieder zwei Spitzen, diesmal um 4 Uhr mit 1.14 ($p < 0.05$) und um 20 Uhr mit 0.632 und zwei Tiefstwerte um 24 Uhr mit 0.13 ($p < 0.04$) und um 16 Uhr mit 0.17 ($p < 0.02$).

Auch die Mitosetätigkeit weist einen Gipfel auf, der diesmal bei 12 Uhr mit 0.148 ($p < 0.05$ gegen 20 Uhr und 24 Uhr) liegt.

Extraparenchym.

Auch für den H^3 -Index des Extraparenchyms besteht eine Analogie zum Parallelversuch mit Maxima um 4 Uhr mit 3.886 ($p < 0.02$ gegen 24 Uhr) und um 20 Uhr mit 2.298 ($p < 0.05$ gegen 24 Uhr), sowie Minima um 24 Uhr mit 0.93 ($p < 0.02$ gegen 4 Uhr) und um 8 Uhr mit 1.199 ($p < 0.05$ gegen 4 Uhr).

Der Mitose-Index hat um Mitternacht ein Minimum mit 0.168 ($p < 0.04$ gegen 4 Uhr) und Maxima um 4 Uhr mit 0.509 ($p < 0.05$ gegen 20 Uhr) und um 16 Uhr mit 0.352 ($p < 0.005$ gegen 24 Uhr). Die Werte von 8, 12 und 20 Uhr bleiben konstant bis etwa 0.2.

Vergleich der Ergebnisse.

Der zweimal unter gleichen Bedingungen in vierwöchigem Abstand (Februar und März 1966) durchgeführte Versuch ergibt sowohl für das Parenchym als auch für das Extraparenchym eine gleichgerichtete Abhängigkeit von der Tageszeit bei H^3 -Thymidin-Einbau und Mitosehäufigkeit.

Die DNS-Synthese zeigt im Gegensatz zum relativen Lebergewicht, das nur ein Maximum morgens um 8 Uhr aufweist, eine deutliche Gipfelbildung der Indices am frühen Vormittag und in den Abendstunden. Die kleinsten Einbauraten finden sich am Nachmittag und um Mitternacht.

Die Mitoseleistung ist in der Mittagszeit am grössten. Bemerkenswert ist, daß die Morgengipfel im März vorverlegt sind. Die Abstände zwischen Morgen- und Abendgipfeln sind um zwei Stunden verlängert; die Erklärung des Phänomens ist wahrscheinlich in der Tatsache zu suchen, daß der Tag im März zwei Stunden länger Licht hat als im Februar. Da die Abendgipfel in beiden Versuchen nicht stark differieren - möglicherweise ist der nicht geprüfte März-Wert um 22 Uhr auch noch erhöht - ist anzunehmen, daß Vorverlegung und Verlängerung der biologischen Leistung im März mit dem früheren Sonnenaufgang in Zusammenhang steht.

Auffallend ist ausserdem, daß bezüglich der Syntheseleistung auch ein quantitativer Unterschied vorliegt (Abb.1), der jedoch nicht zu sichern ist.

3. Gruppe Colchizin + H^3 -Thymidin ($C+H^3$) (Abb. 2-4, Tab. 3)

Parenchym.

Der Verlauf des H^3 -Index für die kombinierte Vorbehandlung zeigt eine erhöhte Aktivität in den Morgenstunden um 4 Uhr mit 0.45 und mit 1.004 um 8 Uhr ($p < 0.05$) und in den Abendstunden um 20 Uhr mit 0.39. Die Tiefwerte differieren mit 0.1 um Mitternacht ($p < 0.05$) und 0.11 am Nachmittag um 16 Uhr ($p < 0.05$) um 90% vom Höchstwert.

Die Mitosetätigkeit zeigt einen 1. Spitzenwert mit 0.132 ($p < 0.04$) wiederum um 8 Uhr und einen 2. Spitzenwert aber schon um 16 Uhr mit 0.154. Der Tiefstwert um 24 Uhr mit 0.029 ist gegenüber dem 8 Uhr - Wert signifikant ($p < 0.01$).

Extraparenchym.

Der H^3 -Index läßt um Mitternacht mit 0.936 ($p < 0.001$) ein Minimum erkennen. Der H^3 -Thymidin-Einbau nimmt jedoch gegen Morgen zu und erreicht um 8 Uhr mit 2.159 einen gegenüber 24 Uhr signifikanten Höhepunkt ($p < 0.001$). Bis zum Abend zeigt der Index durchweg konstant erhöhte Werte, die allerdings schon ab 20 Uhr mit 1.51 leicht zurückgehen.

Wie bei den nur mit H^3 -Thymidin vorbehandelten Tieren liegt bei der Mitoseleistung ein Indexminimum um Mitternacht mit 0.158 ($p < 0.05$). Um 8 Uhr findet sich ein Gipfel mit 0.355 ($p < 0.05$). Die Werte um 4 Uhr mit 0.227 und um 12 Uhr mit 0.257 sind gleichwertig. Zum Abend hin erfolgt eine Verminderung der Mitose-tätigkeit.

4. Gruppe Colchizin (C) (Abb. 4, Tab.4)

Parenchym.

Die allein mit Colchizin vorbehandelten Tiere lassen eine deutliche Mitosetätigkeit um Mitternacht mit 0.088 erkennen ($p < 0.04$) gegen 16 Uhr). Der Tiefstwert fällt mit 0.03 auf 16 Uhr.

RHYTHMUSVERSUCH - H_3 -THYMIDIN-INDICES-LEBER

Autoradiographische Auswertung

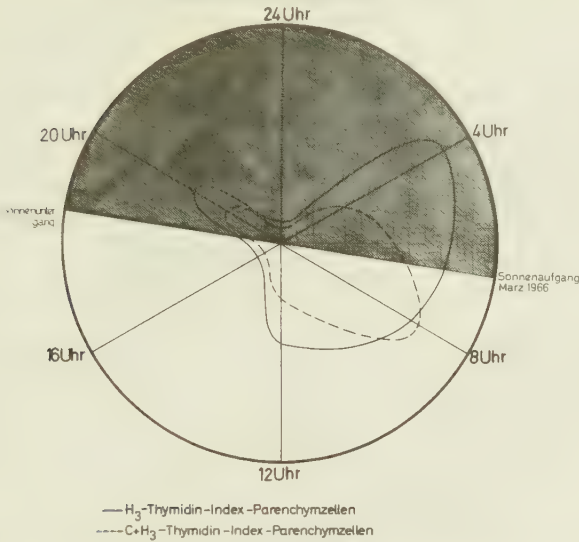


Abb. 2

Maxima und Minima von H^3 -Thymidin- und Mitose-Index bei tagesrhythmischen Schwankungen.

RHYTHMUSVERSUCH - H_3 -THYMIDIN-INDICES-EXTRA -

PARENCHYM

Autoradiographische Auswertung

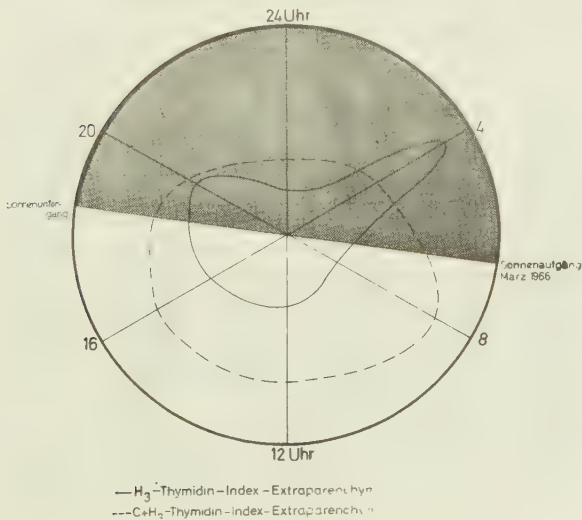


Abb. 3

RHYTHMUSVERSUCH - MITOSE-INDICES-LEBER

Autoradiographische Auswertung

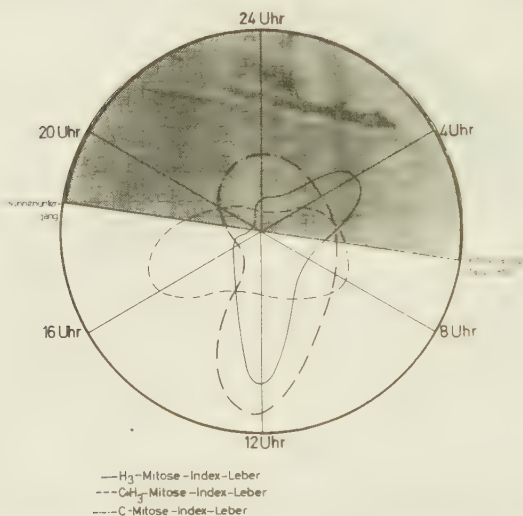


Abb. 4

Maxima und Minima von H³-Thymidin - und Mitose - Index bei tagesrhythmischen Schwankungen.

Rhythmusversuch - H₃ Thymidin - Indices - Mitose - Indices

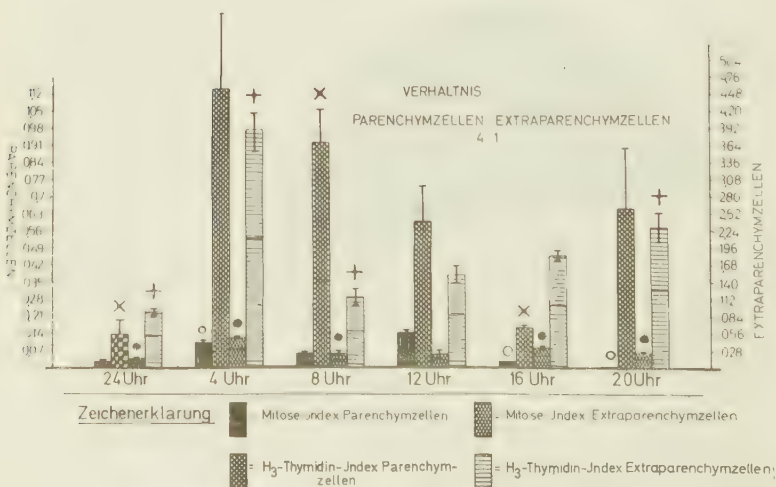


Abb. 5

Extraparenchym.

Die Werte des Mitose-Index dieser Gruppe liegen insgesamt höher als bei den vorgehenden Gruppen. Höchstwerte finden sich um 24 Uhr mit 0.354 ($p < 0.05$ gegen 16 Uhr), um 8 Uhr mit 0.35 und um 12 Uhr mit 0.3646 ($p < 0.025$ gegen 16 Uhr). Gegen Abend nehmen die Werte wieder ab: signifikante Tiefstwerte von 0.2429 um 16 Uhr und um 20 Uhr mit 0.2477.

Vergleich der Ergebnisse.

Colchizin wurde zu dem Zweck verabreicht, die Mitosen binnen vier Stunden auflauern zu lassen, um so die Zahl der Mitosen zu erhöhen. Dies ist beim Parenchym und Extraparenchym gelungen: die absolute Anzahl der Parenchym-Mitosen über den ganzen Tag ist nach Colchizin (C) um 35% und bei Colchizin + H^3 -Thymidin ($C+H^3$) um 40% gegenüber der Gruppe H^3 vermehrt. Entsprechend ist die Vermehrung auch beim Extraparenchym.

Colchizin verändert aber beim Parenchym einerseits den Tagesrhythmus der Mitoseleistung mit Verlagerung des Spitzenwertes von 12 nach 16 Uhr und andererseits den des H^3 -Index von 4 nach 8 Uhr bei gleichzeitiger quantitativer Verminderung des Thymidineinbaues.

Das Extraparenchym reagiert mit einem gesteigerten Thymidineinbau, lässt aber keinen deutlichen Tagesrhythmus mehr erkennen.

Ob die Rhythmusverschiebung beim Kombinationsversuch durch Colchizin oder durch H^3 -Thymidin ausgelöst wird, lässt sich mit diesem Versuch nicht erklären.

Als für alle Versuche geltendes Merkmal ist hervorzuheben, daß sowohl im Parenchym als auch im Extraparenchym weit mehr DNS-synthetisierende als sich teilende Zellen gefunden werden (Abb.5) und daß beide Zelleistungen im Extraparenchym wesentlich intensiver gefunden werden, als im Parenchym. Dies wird schon mit den absoluten Index-Werten deutlich und bei Berücksichtigung des Zahlenverhältnisses

Parenchym- : Extraparenchymzellen = 2:1

ergibt sich eine noch grössere Differenz.

B. Alters- und Geschlechtsunterschiede bei Leber, Haut und Magen (Abb. 6-9; Tab. 5,6)

1. Leber (Tab. 5; Abb.6,7)

Für die einzelnen Tierklassen wurden folgende Gewichtswerte ermittelt:

		absolutes	relatives
	Körpergewicht	Lebergewicht	
I junge Tiere männl.	5.5 g	136 mg	24.7 mg
II junge Tiere weibl.	4.8 g	124 mg	25.8 mg
III alte Tiere männl.	29.4 g	1558 mg	53.0 mg
IV alte Tiere weibl.	31.5 g	1900 mg	60.3 mg
V uralte Tiere, männl. (über ein Jahr alt)	45.9 g	2421 mg	52.7 mg

Parenchym. (Abb. 6)

Dominierend sind die signifikant erhöhten H^3 -Indices der jungen weiblichen und männlichen Gruppen, die mit 4.7 bzw. 3.1 einen deutlichen Abstand zu den Mittelwerten der alten und uralten Tiere mit 0.14, 0.12 und 0.99 zeigen. Die Indices der Gruppen III, IV und V liegen untereinander in der Streubreite.

Die Mitose-Indices der Gruppen I und II sind gegenüber III - V ebenfalls statistisch sicher erhöht. Sie haben Werte von 0.5 (männliche Tiere) und 0.4 (weibliche Tiere) gegenüber Indices von 0.01 bis 0.05 der alten und uralten Tiere aufzuweisen.

Extraparenchym. (Abb.7)

Die H^3 -Indices der jungen Tiere von 7.9 bei I und 9.5 bei II unterscheiden sich auch beim H^3 -Index der Extraparenchymzellen von denen der alten und uralten Tiere. Während aber die alten Männchen und Weibchen eine gleichwertige DNS-Synthese (Indices von 0.4 bei III und 0.3 bei IV) zeigen, steigt der Index der uralten Männchen bis fast auf das Doppelte; dieser Wert von 0.655 liegt allerdings in der Streubreite der alten Tiere (III und IV).

Beim Mitose-Index ergeben sich wiederum signifikant erhöhte Werte der jungen Tiere von 0.8 bei I und 0.7 bei II gegenüber 0.06 bis 0.13 (III - V) bei den alten und uralten Mäusen.

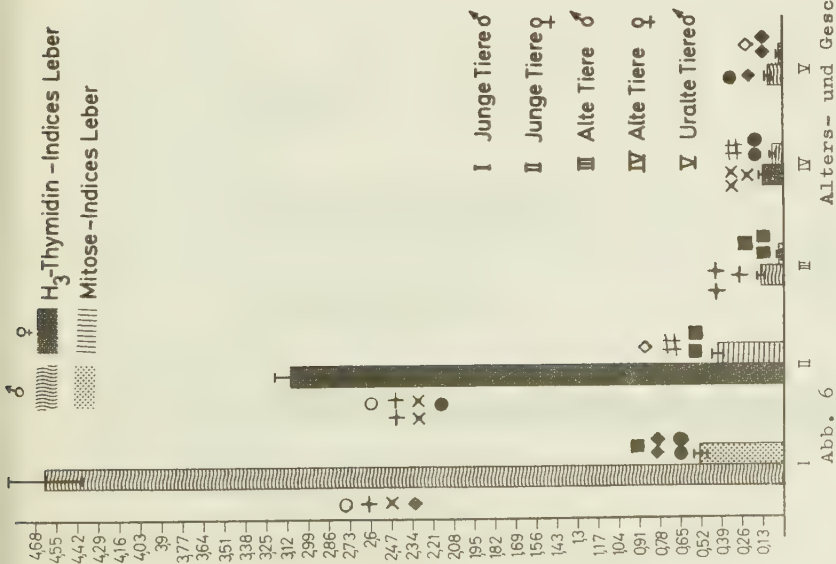


Abb. 6

I, II 8 Tage alt III, IV 14 Monate alt V 18 Monate alt x, +, o usw. signifikant gegeneinander

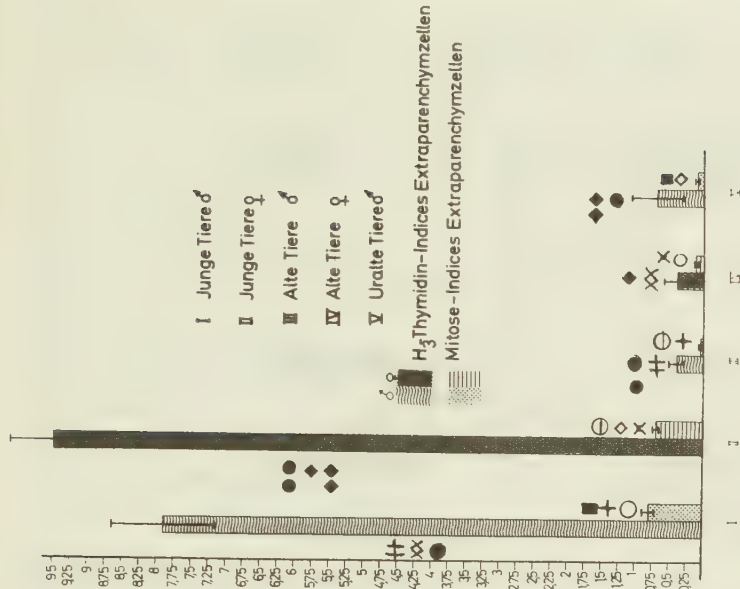


Abb. 7

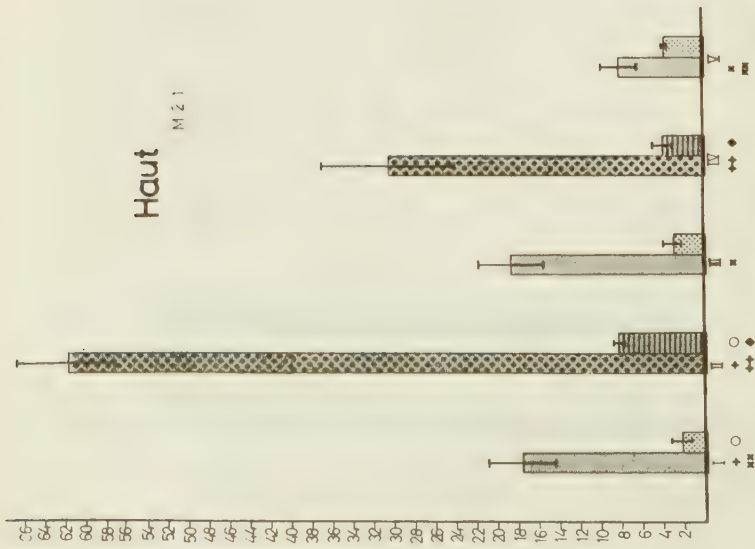


Abb. 8

Alters- und Geschlechtsabhängigkeit

I, II 8 Tage alt III, IV 14 Monate alt V 18 Monate alt x, +, o usw. signifikant gegeneinander

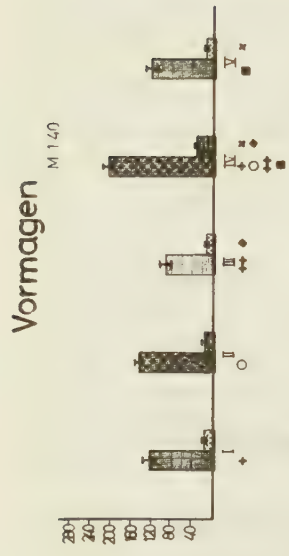


Abb. 9

2. Haut. (Tab.6; Abb.8)

Die höchsten Mittelwerte des H^3 -Indexes entfallen auf die weiblichen Tiere mit 61.8 bei Gruppe II und 30.6 bei Gruppe IV; mit $p < 0.05$ unterscheiden sich alte und junge Weibchen signifikant um ca. 50%. Die DNS-Synthese ist bei den uralten Tieren mit einem Mittelwerte von 8.0 am geringsten und gegenüber männlichen alten mit 18.6 und jungen Tieren mit 17.4 deutlich erniedrigt ($p < 0.05$). Der Geschlechtsunterschied ist bei den jungen Tieren signifikant ($p < 0.001$), bei den alten Mäusen besteht er nicht.

Beim Mitose-Index liegen die weiblichen jungen Tiere mit einem Mittelwert von 8.2 ($p < 0.05$) beinahe doppelt so hoch wie alle übrigen Gruppen (2.0 bis 3.8), die sich untereinander innerhalb ihrer Streubreite bewegen. Mit 2.0 (männlich) und 8.2 (weiblich) ist der Geschlechtsunterschied der Gruppen I und II signifikant ($p < 0.05$).

3. Vormagen. (Tab. 6; Abb.9)

Der Einbau von H^3 -Thymidin ist bei den alten weiblichen Tieren mit 204.4 wesentlich reger als bei allen anderen Gruppen. Für die alten Mäuse ergibt sich ein Mittelwert von 91.2 bei III und 122.0 bei IV und damit ein signifikanter Geschlechtsunterschied ($p < 0.009$). Ein Altersunterschied lässt sich für die weiblichen Tiere (143.2 bei II) mit $p < 0.025$ ermitteln. Die Werte der jungen Tiere liegen mit 124.0 bei I und 143.2 bei II relativ nahe beisammen; es besteht also hier kein Geschlechtsunterschied.

Die alten weiblichen Tiere zeigen auch in der Mitosetätigkeit mit 31.0 den absoluten Höchstwert aller Gruppen. Der Geschlechtsunterschied zu den alten männlichen Tieren mit 12.0 bei III und 12.1 bei V ist signifikant ($p < 0.05$). Für die jungen Tiere ergibt sich weder ein Alters- noch ein Geschlechtsunterschied.

4. Drüsenmagen. (Tab. 6; Abb.9)

Die Werte des H^3 -Index der jungen männlichen (260.4) und der jungen weiblichen Mäuse (299.0) liegen durchweg mehr als doppelt

so hoch wie der der alten Tiere (117.2 bei III, 93.4 bei IV und 96.0 bei V), die sich untereinander nicht wesentlich unterscheiden. Es besteht also ein deutlicher Altersunterschied. Geschlechtsunterschiede sind nicht festzustellen.

Auch hinsichtlich der Mitosetätigkeit treten die jungen Tiere mit den höchsten Index-Werten von 33.0 (Gruppe I) und 34.5 (Gruppe II) hervor. Die alten männlichen und weiblichen, sowie die uralten Tiere sind mit Mittelwerten zwischen 6.8 und 10.2 annähernd gleich. Auch hier lässt sich kein Geschlechtsunterschied nachweisen.

Vergleich der Ergebnisse.

Sowohl hinsichtlich des H^3 -Thymidin-Einbaues als auch der Mitosehäufigkeit liegen bei allen untersuchten Organen die jungen männlichen und weiblichen Tiere an der Spitze der ermittelten Index-Werte.

Leber.

Das relative Lebergewicht ist bei den jungen Tieren durchweg halb so gross wie bei den alten. Als Ausdruck des vehementen juvenilen Wachstums ist dementsprechend die gesteigerte Aktivität von DNS-Synthese und Mitosen in der Leber bei Parenchym und Extraparenchym anzusehen.

Die Steigerung des H^3 -Index beim Extraparenchym der uralten Mäuse könnte für eine altersbedingte Bindegewebsaktivierung sprechen.

Haut.

Bei der Haut sind für beide Indices neben den Alters- hauptsächlich die Geschlechtsunterschiede bemerkenswert. Die Steigerung bei den weiblichen Tieren ist wahrscheinlich durch die Nachbarschaft der Milchdrüsen bedingt, da zur Untersuchung Bauchhaut herangezogen wurde.

Vormagen.

Sowohl für DNS-Syntheseleistung als auch für die Mitose-tätigkeit ergibt sich bei den alten Tieren ein Geschlechtsunterschied mit Steigerung beider Indices bei den alten Weibchen. Ein Alters-

unterschied besteht nur bei den weiblichen Tieren, und gilt nur für den H^3 -Index, der bei den alten Tieren erhöht ist.

Drüsenmagen.

Beim Drüsenmagen sind ausschliesslich Altersunterschiede festzustellen, wobei wie bei den übrigen Organen die jungen Tiere wiederum die grösste Aktivität von DNS-Synthese und Mitosehäufigkeit aufweisen.

C. Chronische Pharmakabehandlung.

a. Kurzzeitversuche. (Abb. 10, Tab. 7,8)

In diesem Versuch sollte geprüft werden, wie sich DNS-Synthese und Mitosehäufigkeit der Leber im Initialstadium einer chronischen Phenobarbitalbehandlung verhalten. Ausserdem war zu klären, ob die intraperitoneale Injektion von Phenobarbital möglicherweise über einen peritonealen Reiz auf DNS-Synthese und Mitosehäufigkeit der Leber Einfluss nehmen würde.

Als Vergleichssubstanz wurde der unspezifische Puffer Na_2HPO_4 nerangezogen; der pH-Wert des Puffers Na_2HPO_4 und des Phenobarbitals ist mit 8.5 gleich.

1. Phenobarbital und Na_2HPO_4 per os appliziert.

H^3 -Index.

Nach 24-stündiger Applikation von Phenobarbital zeigt sich ein mit 1.4 signifikant ($p < 0.025$) gesteigerter Einbau von H^3 -Thymidin der nach weiteren 24 Stunden mit 1.2 leicht abgenommen (aber noch signifikant ist) und nach 20 Tagen wieder den Kontrollwert erreicht hat.

Der H^3 -Index des Puffers zeigt dagegen keinerlei Einfluss auf die Tätigkeit der Leberzellen und verhält sich 20 Tage lang unverändert wie der Vergleichswert.

Mitose-Index.

Ähnlich wie beim H^3 -Index zeigt auch die Mitosetätigkeit nach Phenobarbital zwar einen Höchststand nach 24 Stunden mit 0.138 bzw. nach 48 Stunden mit 0.144, bleibt aber noch im Streubereich der Kontrollen. Nach 20 Tagen ist mit 0.033 der Ausgangswert wieder fast erreicht.

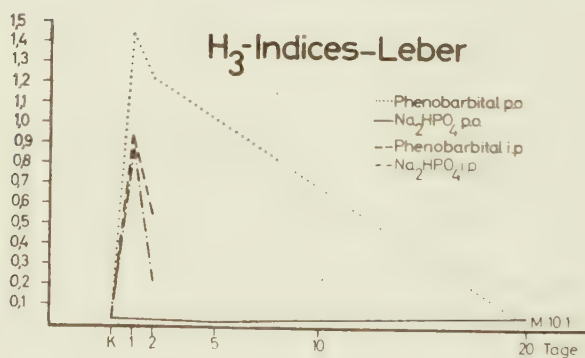
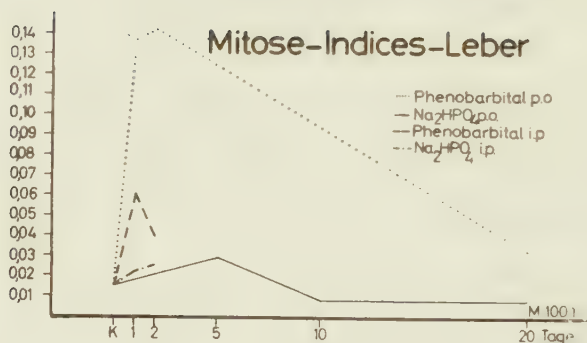


Abb. 10

Veränderung der Indices bei Phenobarbitalbehandlung (Tagesdosis)

Phenobarbital	p.o. 240 mg/kg
Phenobarbital	i.p. 200 mg/kg
Na ₂ HPO ₄	p.o. 400 mg/kg
Na ₂ HPO ₄	i.p. 400 mg/kg

Der Mitose-Index zeigt nach Applikation von Na_2HPO_4 einen gleichen Verlauf mit vorübergehender Erhöhung, bleibt jedoch den Vergleichswerten noch näher.

2. Phenobarbital und Na_2HPO_4 intraperitoneal injiziert.

H^3 -Index.

Hier stehen lediglich die Beobachtungen über 48 Stunden zur Verfügung, jedoch zeigt sich bei den Substanzen ein nahezu synchron ablaufender Initialreiz nach 24 Stunden. Die Index-Werte betragen für Phenobarbital 0.9 ($p < 0.05$) und Na_2HPO_4 0.8 ($p < 0.05$). Der Index beider Substanzen ist nach 48 Stunden schon wieder stark abgefallen.

Mitose-Index.

Bei beiden Substanzen ist eine unbedeutende Erhöhung der Indices nach 24 und 48 Stunden festzustellen, die sich im Streubereich bewegt.

Vergleich der Ergebnisse.

Für Phenobarbital ergibt sich sowohl per os als auch durch intraperitoneale Injektion appliziert, eine signifikante Steigerung des H^3 -Index. Auch die Mitosehäufigkeit nimmt in beiden Fällen zu, bleibt aber im Streubereich der Kontrollen. Alle Werte haben sich nach 20 Tagen bei gleichbleibender Exposition normalisiert.

Für Na_2HPO_4 findet sich lediglich eine signifikante Steigerung des H^3 -Index bei intraperitonealer Anwendung; danach ist eine durch den Einstich bei der intraperitonealen Injektion und durch die Flüssigkeitsvermehrung im Bauchraum hervorgerufene mechanische Initialreizung auf Grund des unphysiologischen pH-Wertes. nicht auszuschließen.

Da bei Phenobarbital die Steigerung durch beide Applikationsarten ausgelöst wird, muss hier ein echter, substanzbedingter Initialreiz angenommen werden.

b. Langzeitversuch. (Abb. 11-15, Tab. 9, 10)

Dieser Versuch sollte über extrahepatische DNS-Synthese und Mitosehäufigkeit nach chronischer Zufuhr von lebervergrößernden Substanzen (Phenobarbital, Halothan, Methoxyfluoran) Aufschluss geben. Ausserdem war zu prüfen, ob die durch das Carcinogen DÄNA hervorgerufene Veränderung der beiden Messwerte durch diese Pharmaka beeinflusst werden. Zur Kontrolle der pH-Wirkung des Phenobarbital (pH=8.5) wurde als Vergleichssubstanz der unspezifische Puffer Na_2HPO_4 mitgetestet.

Nach 18 Wochen wurden aus allen Gruppen Haut, Peritoneum, Magen und Speicheldrüsen von je fünf Tieren untersucht und mit einer gleich grossen unbehandelten Kontrollgruppe verglichen.

Nach 30 Wochen konnten nur noch die Wirkungen der Einzelsubstanzen (ausser DÄNA) an je fünf Tieren und einem entsprechenden Kontrollkollektiv geprüft werden, da die Tiere der Kombinationsversuche zu diesem Zeitpunkt grösstenteils tot waren.

Die Zählergebnisse weisen zumeist (auf Grund der kleinen Kollektive) eine beträchtliche Streubreite auf, so dass sich ihr Ausagewert einschränkt. Die Abweichungen von den Kontrollwerten erscheinen jedoch für manche Versuchsgruppen so charakteristisch, dass bei einer Differenz von 50% und mehr die Angabe einer Wirkungstendenz berechtigt erscheint. Entsprechende Werte sind durch $p > 0.05$ gekennzeichnet, wenn der Hinweis auf die fehlende Signifikanz nicht direkt angegeben ist.

1. Haut. (Abb. 11)

18-Wochen-Versuch. (Tab. 9a und 9b)

Beim H^3 -Index (Tab. 9a) übersteigen der Puffer Na_2HPO_4 (184.4), Phenobarbital (69.8) und DÄNA (84.4) mit ihren Werten die Kontrollen, Halothan (33.0) und Methoxyfluoran (41.0) sind dagegen erniedrigt; infolge der grossen Streubreite ist jedoch keine statistische Sicherung möglich. Die kombinierten Substanzen DÄNA + Na_2HPO_4 sind um 80% ($p < 0.01$), DÄNA + Phenobarbital um 75% ($p < 0.04$), DÄNA + Phenobarbital + Halothan um 80% ($p < 0.04$) und DÄNA + Methoxyfluoran um 80% ($p < 0.025$) mit Werten zwischen 13 und 17 gegenüber 56.8 der Kontrolle deutlich erniedrigt.

18 Wochen-Versuch

Haut	
Peritoneum	
Vormagen	
Drüsenmagen	

30 Wochen-Versuch



K Kontrolle

N Na_2HPO_4

H Halothan

PH Phenobarbital

MF Methoxyfluoran

D Diaethylnitrosamin(Däna)

DN Däna+ Na_2HPO_4

DH Däna+Halothan

DPH Däna+Phenobarbital

DMF Däna+Methoxyfluoran

DPH+H Däna+Phenobarbital
+Halothan

○ signifikant gegenüber Kontrolle

+ signifikant gegenüber Däna

Zeichenerklärung

für Abb. 11 - 15

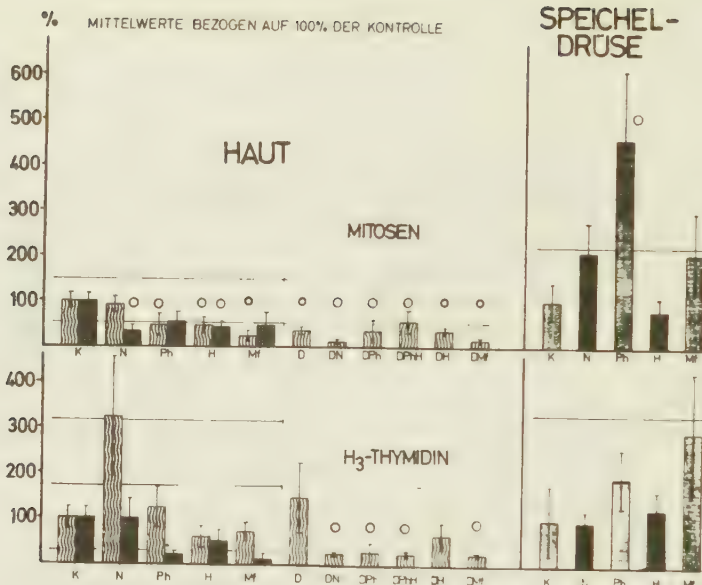


Abb. 11

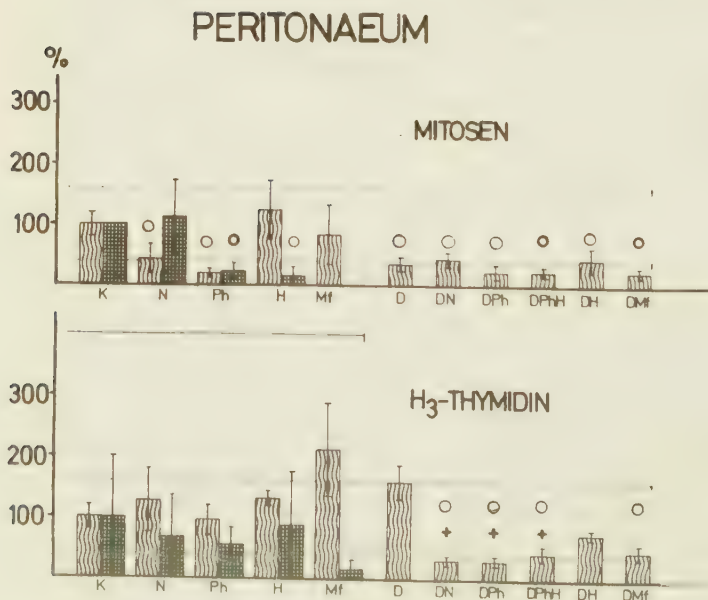


Abb. 12

Langzeitversuch

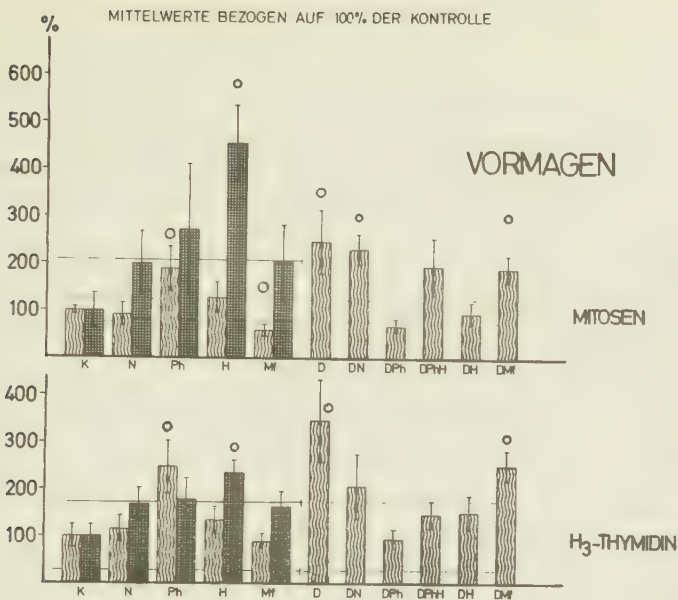


Abb. 13

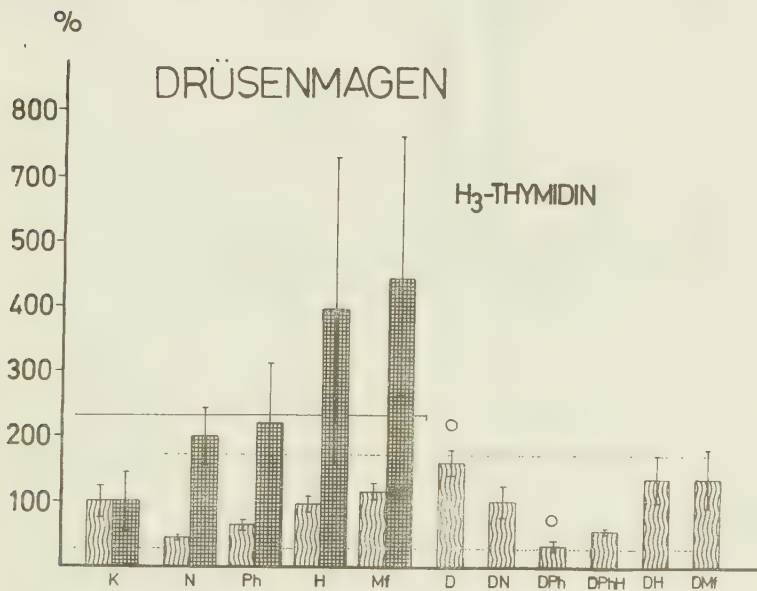


Abb. 14

Langzeitversuch

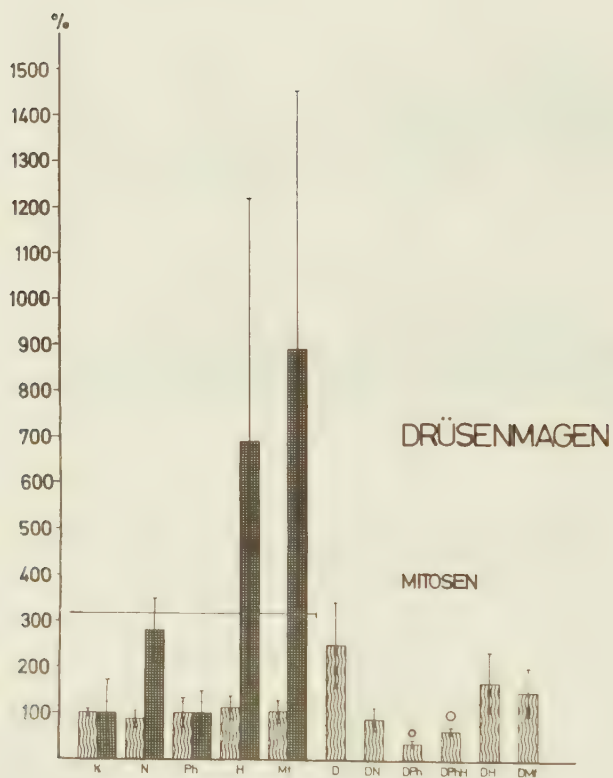


Abb. 15
Langzeitversuch

DÄNA + Halothan fällt in den Streubereich.

Hinsichtlich der Mitosetätigkeit (Tab. 9b) entspricht lediglich Na_2HPO_4 mit einem Mittelwert von 70.8 dem Kontrollwert von 76.4. Alle übrigen Werte sind um mehr als 50% erniedrigt ($p < 0.05$)

30-Wochen-Versuch. (Tab. 10a und 10b)

Auch beim H^3 -Index (Tab. 10 a) zeigt nur der Puffer Na_2HPO_4 mit 40.6 einen H^3 -Thymidin-Einbau in gleicher Aktivität wie die Kontrolle mit 39.5. Alle übrigen Pharmaka haben gegenüber den Kontrolltieren zwar kleinere Werte zwischen 5.0 und 13.6, die aber noch in den Streubereich der Kontrollen fallen. Demnach ist kein wesentlicher Einfluss auf die DNS-Synthese mehr festzustellen.

In der Mitosetätigkeit (Tab. 10b) liegen Halothan mit 15.8 ($p < 0.0125$) und Na_2HPO_4 mit 18.3 ($p < 0.04$) um mehr als 60% unter der Kontrolle und weisen auf eine deutliche Verminderung der Mitose

tätigkeit hin. Methoxyfluoran (16.5) und Phenobarbital (19.8) sind zwar ebenfalls um den gleichen Betrag erniedrigt, werden jedoch wegen des grossen Streubereichs nicht signifikant.

2. Peritoneum. (Abb. 12)

18-Wochen-Versuch. (Tab. 9a und 9 b)

Beim H^3 -Index (Tab. 9a) liegen alle Einzelsubstanzen einschliesslich DÄNA mit Werten zwischen 6.0 und 13.4 im Kontrollbereich. Alle Kombinationsgruppen ausser DÄNA + Halothan sind deutlich erniedrigt (Mittelwerte von 2.0 bis 4.8).

Der Mitose-Index (Tab. 9b) zeigt Methoxyfluoran mit 8.4 und Halothan mit 12.6 im Streubereich der Kontrollen (9.6). Alle übrigen Substanzen bewegen sich mit Werten zwischen 2.2 bis 4.6 und sind signifikant kleiner.

30-Wochen-Versuch. (Tab. 10a und 10 b)

Gegenüber dem Kontrollwert von 3.0 bleiben die Werte des H^3 -Index (Tab. 10 a) aller untersuchten Pharmaka von 0.5 bis 2.7 innerhalb der Kontrollstreuung.

Hinsichtlich der Mitosetätigkeit (Tab. 10b) liegt nur der Wert des Puffers Na_2HPO_4 mit 4.5 in Höhe der Kontrolle (4.0). Dagegen sind Phenobarbital mit 1.0 ($p < 0.0125$) um 85% und Halothan mit 0.7 ($p < 0.0125$) um fast 90% deutlich verringert. Bei Methoxyfluoran ist durchweg keine Mitose zu finden.

3. Vormagen. (Abb.13)

18-Wochen-Versuch. (Tab. 9 a und 9b)

Beim H^3 -Index (Tab. 9a) übersteigen Phenobarbital mit 887.8 ($p < 0.02$), DÄNA mit 1249.0 ($p < 0.02$) und DÄNA + Methoxyfluoran mit 896.2 ($p < 0.005$) den Kontrollwert 351.0 um 150-250%. Alle übrigen Kollektive bleiben gegenüber der Vergleichsgruppe weitgehend unverändert.

Unter den Einzelsubstanzen nimmt die Mitosetätigkeit (Tab. 9b) bei Phenobarbital mit 94.6 ($p < 0.05$) und DÄNA mit 124.2 ($p < 0.03$), unter den kombinierten Substanzen DÄNA + Methoxyfluoran mit 96.0 ($p < 0.006$), DÄNA + Na_2HPO_4 mit 116.4 ($p < 0.002$) und DÄNA + Phenobarbital + Halothan mit 97.2 ($p < 0.05$) am meisten zu (Kontrolle 48.0). Methoxyfluoran mit einem Mittelwert von 30.4 ($p < 0.04$) wirkt hemmend auf die Mitosetätigkeit.

30-Wochen-Versuch.(Tab. 10 a und 10 b)

Nach diesem Behandlungszeitraum steigern alle Substanzen die Werte des H^3 -Index; am eindrucksvollsten bei Halothan (161.0) mit 140% ($p < 0.005$), bei den anderen Substanzen (nicht signifikant) zwischen 60 und 70% über den Kontrollwert (67.3).

Alle verwendeten Substanzen wirken mitosesteigernd (Tab. 10 b): ihre Werte erreichen das Doppelte des Kontrollwertes. Es fehlt jedoch wieder die Signifikanz. Lediglich Halothan (32.0) konnte bei 350% Steigerung ($p < 0.02$) gegenüber der Kontrolle (7.0) statistisch gesichert werden.

4. Drüsenmagen.(Abb. 14,15)

18 - Wochen - Versuch (Tab. 9a und 9 b)

Alle Versuchsergebnisse des H^3 -Index (Tab. 9a) dieser Reihe verändern sich statistisch nicht sicher gegenüber den Kontrollen. Eine steigende Tendenz lässt sich bei DÄNA ($p < 0.04$), DÄNA + Halothan und DÄNA + Methoxyfluoran um 20 - 40% erkennen. Eine hemmende Wirkungstendenz verursachen die Kombinationen DÄNA+ Phenobarbital ($p > 0.05$) und DÄNA + Phenobarbital + Halothan um 40 - 60%.

In der Mitosetätigkeit (Tab. 9b) sind die gleichen Relationen wie beim H^3 -Index anzutreffen. Die Minderung bei DÄNA + Phenobarbital und bei DÄNA + Phenobarbital + Halothan ist signifikant.

30-Wochen-Versuch.(Tab. 10 a und 10 b)

Beim H^3 -Index (Tab. 10 a) fällt gegenüber den unbehandelten Tieren (37.0) eine Steigerung der Werte um das Doppelte bei Na_2HPO_4 (74.4) und Phenobarbital (82.0), um das 3 1/2 fache bei Halothan (147.5) und um das vierfache bei Methoxyfluoran (165.5) auf. Trotz dieser starken Erhöhung lässt sich keine statistische Sicherheit errechnen.

Der Mitose-Index (Tab. 10 b) zeigt eine Zunahme der Werte um 190 % bei Na_2HPO_4 (12.6), besonders bei Halothan (31.0) um 590 % und um 800 % bei Methoxyfluoran (40.0) gegenüber den Kontrolltieren (4.5); alle mit $p > 0.05$. Phenobarbital (4.6) bleibt unverändert.

5. Speicheldrüse. (Tab. 10 a und 10b)

Gegenüber der Kontrolle (5.5) erhöhen sich die Werte des H^3 -Index (Tab. 10a) von Phenobarbital (10.5) um das Doppelte und von Methoxyfluoran (16.0) um das dreifache, ohne jedoch signifikant zu werden. Halothan (6.8) und Na_2HPO_4 (5.2) bleiben mit ihren absoluten Werten in Höhe der Kontrollen.

Die Erhöhung der Mitosetätigkeit (Tab.10 b) beim Purfer Na_2HPO_4 und Methoxyfluoran um das Doppelte ist ungesichert; die Steigerung bei Phenobarbital um 350 % ist gesichert ($p < 0.05$). Halothan bleibt kontrollgleich.

Vergleich der Ergebnisse.

Die Untersuchungsergebnisse sind auf Grund der kleinen Kollektive und einer methodisch bedingten Streubreite sehr uneinheitlich, so dass ihre Beurteilung sehr schwierig ist. Immerhin lassen sich einzelne Merkmale herausstellen.

Die lebervergrößernden Substanzen wirken auf Haut und Peritoneum sowohl hinsichtlich der DNS-Synthese als auch der Mitoseleistung, wenn überhaupt, hemmend. Für den Magen ist durch

Methoxyfluoran und Halothan eine Steigerung zu erkennen, die sich besonders nach längerer Einwirkung (30 Wochen) bemerkbar macht. Auch die mit dem Verdauungstrakt in Verbindung stehenden Speicheldrüsen zeigen erhöhte Werte für diese Substanzgruppe, an denen sich jedoch Halothan nur wenig beteiligt.

DANA erhöht die Aktivität der Zellen in allen Organen und zu beiden Untersuchungszeitpunkten.

Bei der Kombination beider Substanzgruppen ergibt sich ein ähnliches Bild wie bei den leberinduzierenden Stoffen: bei Haut und Peritoneum eine Erniedrigung, im Magen eine Erhöhung der Aktivitäten. Eine ausgesprochene Summationswirkung, die insbesondere am Magen erklärbar gewesen wäre, tritt nicht ein. Auffallend ist, dass die durch DANA gesteigerten Aktivitäten durch Phenobarbital (angedeutet auch in der DANA + Phenobarbital + Halothan - Gruppe) immer signifikant reduziert werden.

Die Rolle des Puffers Na_2HPO_4 ist indifferent; vor allem kann weitgehend ausgeschlossen werden, dass die Alkalisierung des Magens eine promovierende Wirkung auf die Zellaktivität ausübt.

IV. DISKUSSION

Nach den in den einzelnen Abschnitten kurz zusammengefassten Ergebnissen fand sich für die Wachstumsperiode der Maus bezüglich der DNS-Synthese und der Zellteilungsrate folgendes: Sowohl an H^3 -Thymidin-Index wie am Mitose-Index bestehen eindeutige tagesrhythmische Schwankungen. Von besonders grossem Einfluss darauf scheint der Beginn des Sonnentags zu sein. Die Verwendung von Colchizin mit dem Zweck, Mitosen auflaufen zu lassen, erwies sich dabei als unzweckmässig; hierbei kam es eher zu einer Verschleierung der Schwankungen.

Haut und Epithelmagen zeigen bei allen Altersstufen eine auffallende Konstanz sowohl hinsichtlich des H^3 -Thymidin-Index als auch der Mitoserate. Erst bei überalterten Tieren geht die DNS-Synthese in der Haut signifikant zurück. Demgegenüber verhält sich die Leber anders. Hier zeigen junge Tiere mit einem Gewicht von 5 g sehr hohe Thymidin- und Mitose-Indices; bei alten Tieren sind sie im Vergleich dazu niedrig.

Neben der Altersabhängigkeit besteht, zumindest in den untersuchten Lebensstadien, eine Geschlechtsabhängigkeit. Diese zeigt sich besonders deutlich an der Haut, wobei allerdings zu berücksichtigen ist, daß Hautstücke vom Baucn entnommen wurden; deswegen sind Überschneidungen mit der Milchleiste nicht auszuschliessen. Die Geschlechtsabhängigkeit ist aber auch an den Leberparenchymzellen nachzuweisen: hier zeigen die weiblichen Tiere eine deutliche niedrigere DNS-Syntheserate als die männlichen. Zu betonen ist allerdings, dass die Mitose-Indices gleich gross sind.

Die leberwachstumsanregende Wirkung des Phenobarbital zeigt an der DNS-Syntheseleistung den deutlichsten Effekt nach 24, bzw. 48 Stunden. Diese Anregung hält jedoch nur kurz an; schon nach wenigen Tagen sind die Werte zur Norm zurückgekehrt. Trotzdem ist aber, wie aus anderen Versuchen des Instituts hervorgeht, bei weiterer Darreichung des Phenobarbital eine langsame Steigerung des Lebergewichtes und eine entsprechende der DNS-Menge zu beobachten. Offenbar ist sie aber so langsam, dass sie mit

Hilfe des Thymidin-Index nicht erfasst werden kann. Wir möchten deshalb den Schub am 1. Tag als Zeichen einer starken Zellvermehrung deuten, während später Hypertrophie und Amitose überwiegen.

Ein wichtiges Nebenergebnis für alle Verzeuungsversuche an der Leber bildet der Befund, dass ~~durch~~ die intraperitoneale Injektion eines an sich indifferenten Puffers ebenfalls zum Anstieg der beiden Indices führte. Die oben dargestellten Ergebnisse beziehen sich aber auf Tiere, die Phenobarbital im Trinkwasser erhielten, so dass die hier beobachtete Erhöhung auf eine Substanzwirkung zurückzuführen ist.

Bei längerdauernder Zufuhr von drei lebervergrössernden Substanzen (Phenobarbital, Halothan und Methoxyfluoran) ergab sich auch an anderen Organen eine Verschiebung der Zellvermehrungsrate gegenüber der Kontrolle: an der Haut und am Peritoneum eine Verminderung, eine besonders auffallende Zunahme im Magen. Diese Zunahme im Magen hat ein Äquivalent in einer deutlichen Hyperkeratose, die beim Phenobarbital besonders stark ausgebildet ist.

Gegenüber diesen Substanzen hebt sich DANA deutlich ab. Dieses Carcinogen führt an allen untersuchten Organen während der ganzen Untersuchungszeit von 18 und 30 Wochen zu einer Erhöhung der DNS-Bildung und der Mitosen. Dabei hat die Leber die grösste Steigerung.

Das typische Bild der DANA-Wirkung wird bei der Kombination mit Phenobarbital, stets signifikant, aber auch mit der von Halothan und Methoxyfluoran andeutungsweise zu dem Modus der lebervergrössernden Substanzen allein verschoben, d.h. es kommt zu einer Hemmung der DNS-Synthese in Haut und Peritoneum.

V. ZUSAMMENFASSUNG

An weissen Mäusen wurde mit Hilfe der Autoradiographie der H^3 -Thymidin-Index als Mass der DNS-Synthese während des Wachstums und innerhalb des Tagesrhythmus ermittelt. Zur Vervollständigung des Bildes wurde jeweils der Mitose-Index erfasst.

Es bestehen tagesrhythmische, vom Sonnenaufgang abhängige Schwankungen der DNS-Bildung und der Mitoseleistung in der Leber, die sich durch deutliche Gipfelbildungen in den Morgen- und Abendstunden äussern. Colchizin verschiebt den Tagesrhythmus der Mitoseleistung und der DNS-Synthese, die gleichzeitig vermindert wird.

In der Wachstumsperiode der Maus lassen sich an DNS-Synthese und Mitoserate deutliche Alters- und Geschlechtsunterschiede bei Haut, Magen und Leber nachweisen. Junge Tiere weisen die höchsten Index-Werte auf.

Die Leberwachstum anregende Wirkung des Phenobarbital führt am H^3 -Thymidin-Index für die ersten 24 Stunden zu einer starken Erhöhung.

Lebervergrössernde Dosen von Phenobarbital, Halothan und Methoxyfluoran ergaben nach Zufuhr während 18 und 30 Wochen an der Haut eine Verminderung und am Magen eine deutliche Zunahme der Zellvermehrungsrate; das Carcinogen Diaethylnitrosamin (DANA) führt, insbesondere an der Leber, zu einer Erhöhung beider Indices.

Bei der Kombination der drei Pharmaka mit Diaethylnitrosamin werden, besonders mit Phenobarbital, die durch Diaethylnitrosamin gesteigerten Indices reduziert.

Tabelle 9 a

18 - Wochen - Versuch

A. Markierte Zellen.

	HAUT				PERITONAEUM			
	m	σ_m	t	p	m	σ_m	t	p
K	56.8	14.8	--	--	6.4	1.3	--	--
N	184.4	74.04	--	--	8.2	3.33	--	--
H	33	13.25	--	--	5.4	0.71	--	--
Ph	69.6	24.1	--	--	6	1.64	--	--
D	34.4	43.03	--	--	10.2	1.7	--	--
DH	35.4	15.7	--	--	4.8	0.447	--	--
MF	41	10.7	--	--	13.4	4.785	--	--
DMF	14.5	3.115	2.481	0.025	3.2	0.775	1.946	0.15
DPH	17	12.55	2.048	0.04	2	0.548	2.769	0.01...
DPH+H	14	5.58	2.403	0.04	2.8	0.707	2.779	0.025
DN	13	0.79	2.098	0.01	2	0.632	2.993	0.01

VORNAGEN

GRISSENLAGEN

K	351	80.5	--	--	297.6	76.3	--	--
N	421.2	96.4	--	--	174.8	16.7	--	--
H	483.2	99.47	--	--	306.6	43	--	--
Ph	887.8	199.8	2.49	0.02	195	39.9	--	--
D	1249	308	2.818	0.02	498	59.3	2.039	0.04
DH	574	126.6	--	--	425.4	114.2	--	--
MF	323.2	62.1	--	--	369.6	47.1	--	--
DMF	896.2	113	4.0	0.035	427.2	132.8	--	--
DPH	343.4	69.65	--	--	101.8	21.4	0.746	0.007
DPH+H	528.2	97.65	--	--	176.6	16.32	--	--
DN	743	237.3	--	--	312.2	75.5	--	--

K Kontrolle

DH DÄNA + Halothan

N Na_2HPO_4

MF Methoxyfluoran

H Halothan

DMF DÄNA + Methoxyfluoran

Ph Phenobarbital

DPH DÄNA + Phenobarbital

D Diaethylnitrosamin (DÄNA)

DPH+H DÄNA + Phenobarbital + Halothan

DN DÄNA + Na_2HPO_4

Tabelle 9 b

18 - Wochen - Versuch

B. MITOSEN

	HAUT				PERITONAEUM			
	m	$\bar{O}_m$	t	p	m	$\bar{O}_m$	t	p
K	76.4	12.7	--	--	3.6	1.92	--	--
N	70.8	12.6	--	--	4.4	1.18	2.273	1.33
H	37.8	12.95	2.124	0.04	12.6	5.13	--	--
Ph	36.2	13.3	1.814	0.05	3.2	0.837	3.182	0.12
D	28	7.07	3.3	0.005	3.6	1.18	2.633	0.15
DH	28.2	7.17	5.2	0.0005	4.6	1.87	1.345	1.5
MF	17.2	8.87	4.9	0.0005	8.4	4.77	--	--
DMF	12.7	2.55	5.2	0.0005	2.6	1.18	3.767	0.17
DPh	27.4	19.2	2.126	0.03	2.6	1.45	1.873	0.31
DPh+H	43.8	18.4	2.13	0.05	2.4	1.33	3.137	0.005
DN	9	3.88	2.664	0.0125	4.2	1.51	2.106	0.04

	VORLAGEN				DRÜSENLAGEN			
	m	$\bar{O}_m$	t	p	m	$\bar{O}_m$	t	p
K	48	5.33	--	--	27.4	1.73	--	--
N	45.2	11.4	--	--	24.6	4.755	--	--
H	64.8	16.8	--	--	30.8	6.86	--	--
Ph	94.6	24.03	1.891	0.05	27.8	2.81	--	--
D	124.2	35.3	2.130	0.03	60.2	26.25	--	--
DH	48.8	12.2	--	--	46.8	18.06	--	--
MF	30.4	6.94	2.008	0.04	28.6	6.85	--	--
DMF	96	17.7	3.264	0.006	41.4	14.18	--	--
DPh	35	6.46	--	--	10.6	0.213	4.731	0.0007
DPh+H	97.2	20.1	1.936	0.05	17.6	0.81	2.479	0.02
DN	116.4	16.8	3.87	0.005	24.2	7.2	--	--

K	Kontrolle	MF	Methoxyfluoran
N	Na ₂ HPO ₄	DMF	DÄNA + Methoxyfluoran
H	Halothan	DPh	DÄNA + Phenobarbital
Ph	Phenobarbital	DPh+H	DÄNA + Phenobarbital + Halothan
D	Diaethylnitrosamin (DÄNA)	DN	DÄNA + Na ₂ HPO ₄
DH	DÄNA + Halothan		

Tabelle 10 a

30 - Wochen - Versuch

A. Markierte Zellen

H A U T				P E R I T O N A E U M				
	m	σ_m	t	p	m	σ_m	t	p
H	13.6	10.1	--	--	2.7	2.645	--	--
Mf	5	5	--	--	5.5	0.5	--	--
Ph	6.6	3.75	--	--	1.7	0.837	--	--
N	40.6	18.07	--	--	2	2	--	--
K	39.5	28.9	--	--	3	3	--	--
V O R M A G E N				D R Ü S E N M A G E N				
H	161	16.45	3.65	0.005	147.5	87.8.	--	--
Mf	112	22.05	--	--	165.5	82.14	--	--
Ph	120.7	28.7	--	--	82	34.6	--	--
N	113.4	24.8	--	--	74.4	16.6	--	--
K	67.3	16.73	--	--	37	15.93	--	--
S P E I C H E L D R Ü S E								
H	6.8	2.28	--	--				
Mf	16	7.33	--	--				
Ph	10.5	3.46	--	--				
N	5.2	1.265	--	--				
K	5.5	4.21	--	--				

H Halothan
Mf Methoxyfluoran
Ph Phenobarbital
N Na_2HPO_4
K Kontrolle

Tabelle 10 b

30 - Wochen - Versuch

B. Mitosen.

HAUT					PERITONAEUM			
	m	σ_m	t	p	m	σ_m	t	p
H	15.8	4.59	2.73	0.0125	0.7	2.633	3.33	0.0125
Mf	16.5	9.5	--	--	5	6	--	--
Ph	19.8	7.37	--	--	1	7.543	4	0.0125
N	10.2	5.03	0.04	0.4	4.5	1.4	--	--
K	34.5	5	--	--	4	0	--	--

VORNAESEN					DRÜSENNAESEN			
	m	σ_m	t	p	m	σ_m	t	p
H	30	5.013	3.13	0.00	31	25.90	--	--
Mf	14.33	5.57	--	--	40	25.03	--	--
Ph	19	9.695	--	--	4.0	8.23	--	--
N	14	4.9	--	--	12.6	7.07	--	--
K	7	1.45	--	--	4.5	3.30	--	--

SPECIELLE DRÜSE				
	m	σ_m	t	p
M	1.0	0.00	--	--
Mf	4.5	1.0	--	--
Ph	10	1.74	7.3	0.05
N	4.6	1.0	--	--
K	0.2	0.00	--	--

H Halothan
M Methoxyfluoran
Ph Phenobarbital
N Na-IPC₄
K Kollidale

VII LITERATURVERZEICHNIS

1 BÄNDER, A.

Über tagesperiodische Schwankungen einiger vegetativer Funktionen.

Naunyn-Schmiedebergs Arch. Exp. Path. 208 (1949) 217

2 BARNUM, P., C.D. Jardetzky and F. Halberg

Time Relations Among Metabolic and Morphologic 24-Hour-Changes in Mouse Liver.

Amer. J. Physiol. 195, 301-310 (1958)

3 KUNZ, W., G. Schaude, W. Schmid, H. Siess

Lebervergrößerung durch Fremdstoffe.

Naunyn-Schmiedebergs Arch. Pharmak. u. exp. Path. 254,
470-488 (1966)

4 KUNZ, W., G. Schaude, W. Schmid, H. Siess

Stimulation of Liver Growth By Drugs. I. Morphological Analysis.

Reprinted from Excerpta Medica. International Congress Series No. 115 (1966)

5 NIESSING, I.

Verhalten von Gewicht, Fett- und Glykogengehalt, sowie von DNS-Synthese und Mitosehäufigkeit der Leber der weissen Maus im Circadianrhythmusversuch und bei der durch Pharmaka induzierten Lebervergrößerung.

Med. Diss. Marburg 1968

6 STAUDT, G.

Dissertation in Arbeit.

Herrn Prof. Dr. W. Schmid danke ich für die Überlassung
des Themas und Frau Dr. G. Schaudé für die freundliche
Unterstützung bei der Bearbeitung.

Lebenslauf

Am 28. Oktober 1939 wurde ich als Sohn des technischen Bundesbahnamtmannes Herbert Eicher und seiner Ehefrau Hermine, geborene Walter, in Kaiserslautern geboren.

Ich besuchte die Grundschule in Kaiserslautern von 1946 bis 1949 und das Staatliche Neusprachliche Gymnasium für Knaben in Kaiserslautern von 1949 bis 1959. Im März 1959 bestand ich an dieser Schule die Reifeprüfung.

Nach Ableistung meines Grundwehrdienstes von 1959 bis 1960 immatrikulierte ich mich zum Sommersemester 1960 an der Universität in Heidelberg und begann das Studium der Zahnheilkunde. Nach zwei Semestern setzte ich mein Studium an der Philipps-Universität in Marburg fort und bestand am 1. März 1963 die zahnärztliche Vorprüfung. Am 2. Februar 1966 bestand ich das Staatsexamen und erhielt am 23. März 1966 die Bestallung als Zahnarzt.

Die darauffolgende Zeit verwendete ich neben einer Assistententätigkeit zum Anfertigen der vorliegenden Arbeit.

Seit 1964 bin ich mit einer Zahnärztin verheiratet und habe zwei Kinder.

Meine akademischen Lehrer waren die Herren Professoren und Dozenten:

in Heidelberg: Altmann, Duspiva, Haxel, Hoepke, Ritter, Schwindling, Wittig.

in Marburg: Braun-Falco, Dölle, Gedigk, Hamm, Hennis, Hering, Heuser, Janke, Korb, Kottmeyer, Lang, Löhr, Mahr, Marx, Maurath, Niessing, Puntke, Petry, Rosemann, Schiff, Schmid, Seidel, Siegert, Siess.

24 U h r

2 U h r

4 U h r

6 U h r

8 U h r

10 U R

[illegible]

T A B L E 1

m	Mittelwert
σ_m	Streuung
t	Verteilung nach Student
p	Wahrscheinlichkeit

Ma P Markierte Parenchymzellen
Ma D Markierte doppelkernige Parenchymzellen
Ma E Markierte Extraparenchymzellen
M P Mitosen - Parenchymzellen
M E Mitosen - Extraparenchymzellen

12 Uhr				16 Uhr				18 Uhr				20 Uhr				22 Uhr			
G. Zz.	Z.			G. Zz.	Z.			G. Zz.	Z.			G. Zz.	Z.			G. Zz.	Z.		
15822	-			16736	21			17316	19			17813	36			15619	58		
13823	9			14819	-			16514	-			15966	18			18916	41		
14591	13			15716	14			15076	16			16311	21			14669	50		
14745	7.3			15757	12.6			16302	11.6			16696	25			16401	49.6		
2732	-			1173	7			2730	3			2361	8			2037	12		
3120	1			1043	-			1761	-			1947	9			1836	23		
1631	1			1361	4			1003	6			3074	4			1463	8		
2493	0.6			1192	3.6			1831	3			2460	7			1778	14		
13090	-			15563	14			14586	16			15482	28			13582	46		
10703	8			13776	-			14753	-			14019	9			17080	18		
12900	12			14555	10			14073	10			13237	17			13206	42		
12251	6.6			14564	8			14470	8.6			14236	18			14622	35		
6930	12			5361	19			7816	22			6012	31			6102	67		
5544	59			6491	12			5927	48			5236	42			5743	43		
5080	4			4961	31			6827	16			6541	18			5142	57		
5851	25			5604	20.6			6856	22.6			5929	20.6			5662	52.6		
	2				9				7				6				1		
	7				4				8				9				-		
	3				6				1				5				7		
	4				6.3				5.3				6.6				3.6		
	6				6				4				9				2		
	10				3				3				6				7		
	3				15				-				2				1		
	6.3				8				2.3				5.6				5.2		
m	σ _m	t	p	m	σ _m	t	p	m	σ _m	t	p	m	σ _m	t	p	m	σ _m	t	p
0.032	0.0141	→ 8 Uhr 2.2	→ 8 Uhr 0.05	0.043	0.007	--	--	0.036	0.0141	--	--	0.046	0.008	--	--	0.024	0.014	--	--
0.049	0.0243	→ 8 Uhr 3.43	→ 8 Uhr 0.01	0.054	0.031	--	--	0.071	0.0317	--	--	0.149	0.024	--	--	0.062	0.014	→ 12 Uhr 5.0	→ 12 Uhr 0.005
		→ 22 Uhr 5.058	→ 22 Uhr 0.005					0.033	0.017	→ 8 Uhr 11.0	→ 8 Uhr 0.001	0.094	0.034	--	--	0.093	0.014	--	--
0.102	0.036	--	--	0.142	0.076	--	--	0.417	0.184	→ 8 Uhr 5.967	- 0.04	0.516	0.148	→ 8 Uhr 5.471	- 0.005	0.981	0.118	→ 8 Uhr 5.279	→ 8 Uhr 0.0125
0.427	0.314	→ 8 Uhr 4.434	- 0.01	0.367	0.128	→ 8 Uhr 6.072	- 0.004												
						→ 22 Uhr 3.4251	→ 22 Uhr 0.01												

24-Stunden-Versuch mit H^3 - Markierung
im Februar 1966

24 Uhr				4 Uhr				8 Uhr				12 Uhr				16 Uhr				20 Uhr			
G.Zz. (770 G)		Z		G. Zz. (770 G)		Z		Rel. L. G.		G.Zz. (770 G)	Z		Rel. L. G.		G.Zz. (770 G)	Z		Rel. L. G.		G.Zz. (770 G)	Z		
13401	55			24524	516			53.0	21021	100			63.2	15631	66			57.9	24794	49			
22676	8			24563	267			61.2	18480	199			65.1	16555	41			54.5	18980	38		59.0	
11536	15			24024	152			61.8	25525	305			59.4	16362	99			52.4	24986	29		15477	
19904	26			24370	311.6			58.7	21675	201			50.0	16901	121			54.9	22920	39		19789	
3118	3			4928	36				3580	6				2656	12				4812	1		33	
4273	-			3388	15				3426	14				3349	7				4042	2		61	
3542	3			4312	2				4119	15				2618	18				8200	1		116	
3644	2			4209	18				3708	12				2874	12				5685	1		29	
13202	52			19596	480				17440	94				12974	54				19981	48		2	
18403	8			21175	252				15053	185				13205	34				14938	36		5	
17394	12			19712	50				21406	290				14283	173				16786	28		12	
16260	24			20161	261				17966	190				13487	87				17235	37		226	
7315	66			10626	236				9201	101				8393	104				9933	391		31	
9817	70			10395	367				5929	120				9740	114				8508	90		56	
9625	112			9625	589				10125	81				9278	208				12166	85		104	
9919	83			10215	397				8418	101				9137	142				10202	189		171	
	7				16					12					26						4	236	
	3				25					6					9						4	1	
	4				21					14					25						6	1	
	5				21					11					20						5	0	
	12				31					30					27						40	1	
	13				51					15					12						27	15	
	21				73					21					27						42	36	
	15				52					22					22						36	23	
																						25	

TABLE 2

m Mittelwert
Gm Streuung
t Verteilung nach Student
p Wahrscheinlichkeit

24 Stunden-Versuch mit H³-Thymidin Markierung (März 1966)

MaP Markierte Parenchymzellen
MaD Markierte doppelkernige Parenchymzellen
MaE Markierte Extraparenchymzellen
MP Mitosen- Parenchymzellen
ME Mitosen- Extraparenchymzellen
G.Zz. Gesamtzellzahl
Z Gezählte Zellen

1. März 1966
C + H³

24 Uhr

4 Uhr

8 Uhr

12 Uhr

16 Uhr

20 Uhr

12 Uhr										16 Uhr				20 Uhr										
G.Zz. (770 G)		Z	G.Zz. (770 G)		Z	G.Zz. (770 G)		Z	G.Zz. (770 G)		Z	G.Zz. (770 G)		Z										
MaP	11752	16	18788	8	16747	287	19288	85	19904	16	16747	7												
	17440	7	25525	24	17632	43	23792	46	33687	57	18133	57												
	23639	29	23138	275	25063	267	17248	58	21598	12	20366	157												
MaD	11752	11	22484	102	19814	199	20109	63	25063	28	18415	73												
	11752		3619	1	2117	20	4581	17	4658	2	2849	1												
	11752		4851	1	2887	3	6583	14	6737	3	3696	7												
MaE	11752		4389	12	3888	15	2926	9	5621	2	3270	21												
	11752		4286	5	2964	13	4697	13	5672	2	2872	13												
	10085		15169	7	14630	267	14707	68	15246	14	13208	6												
MaF	14003		20674	23	14750	40	17209	32	26950	54	14437	50												
	19712		18749	263	21175	252	14322	49	15977	10	17094	136												
	12117		18197	98	16580	186	15413	50	19391	26	15143	64												
MaG	10040		7122	34	7276	126	9653	218	8393	103	8778	36												
	11225		11550	181	6776	35	10248	123	12897	373	9432	179												
	15009		11627	182	10395	367	8008	191	8162	85	9894	210												
MaH	11225		10100	132	8149	176	9303	172	9817	187	9363	142												
		6		1		25		25		3		-												
		3		15		15		10		76		-												
MaI		7		16		25		17		10		-												
		5		11		22		17		30		10												
												9												
MaJ		13		15		23		28		24		10												
		10		34		14		15		17		26												
		17		30		51		30		10		15												
MaK		14		23		29		24		17		13												
	m	Gm	t	p	m	Gm	t	p	m	Gm	t	p	m	Gm	t	p								
	St-E-P	0.109	0.3057	→ 8 Uhr 4.6511	→ 8 Uhr 0.015	0.06	0.025	→ 8 Uhr 2.351	→ 8 Uhr 0.04	0.132	0.0208	→ 4 Uhr 2.351	→ 4 Uhr 0.04	0.084	0.0107	→ 24 Uhr 2.589	→ 24 Uhr 0.03	0.154	0.0255	--	--	0.059	0.0308	--
St-E-D	0.1	0.113	→ 8 Uhr 2.182	→ 8 Uhr 0.05	0.453	0.442	--	--	1.004	0.452	→ 16 Uhr 2.15	→ 16 Uhr 0.05	0.313	0.0794	→ 16 Uhr 2.357	→ 16 Uhr 0.05	0.111	0.0412	→ 8 Uhr 2.15	→ 8 Uhr 0.05	0.06	0.010	--	--
St-E-E	0.150	0.0141	→ 8 Uhr 2.171	→ 8 Uhr 0.05	0.227	0.0346	--	--	0.355	0.0812	→ 24 Uhr 2.171	→ 24 Uhr 0.05	0.257	0.064	--	--	0.173	0.0173	--	--	0.188	0.010	--	--
St-E-D	0.08	0.084	→ 8 Uhr 11.047	→ 8 Uhr 0.001	1.306	0.363	--	--	2.159	0.8745	→ 24 Uhr 11.047	→ 24 Uhr 0.001	1.902	0.377	→ 24 Uhr 2.598	→ 24 Uhr 0.05	1.904	0.588	--	--	1.515	0.517	--	--

TABELLE 3

m Mittelwert
Gm Streuung
t Verteilung nach Student
p Wahrscheinlichkeit

24 Stunden-Versuch mit H³-Thymidin Markierung und Colchizin

MaP Markierte Parenchymzellen
MaD Markierte doppelkernige Parenchymzellen
MaE Markierte Extraparenchymzellen
MP Mitosen Parenchymzellen
ME Mitosen Extraparenchymzellen
G.Zz. Gesamtzellzahl 770 G. 770 Gesichtsfelder Z Gezählte Zellen

24 Uhr				4 Uhr				8 Uhr				12 Uhr				16 Uhr				20 Uhr				m Mittelwert m Streuung t Verteilung nach Student P Wahrscheinlichkeit T A B E L L E 4 ----- 24-Stunden- Versuch mit Colchizin
G.Zz. (770 G)	Z	G.Zz. (770 G)	Z	G.Zz. (770 G)	Z	G.Zz. (770 G)	Z	G.Zz. (770 G)	Z	G.Zz. (770 G)	Z	G.Zz. (770 G)	Z	G.Zz. (770 G)	Z									
19211.5		18133.5		20828.5		17979.5		21483		19827.5														
22214.5		18595.5		19019		19211.5		18634		17633														
20366.5		22060.5		16632		18711		19404		17787														
20597.5		19596.5		18826.5		18634		19840.3		18415.8														
2695		3157		3080		3157		3542		2271.5														
4004		2733.5		2233		2926		1540		2079														
3041.5		3888.5		1848		2733.5		2156		1963.5														
3246.8		3259.7		2387		2938.8		2142.7		2104.7														
16516.5		14976.5		17748.5		14822.5		17941		17556														
18210.5		15862		16786		16285.5		17094		15554														
17325		18172		14784		15977.5		17248		15823.5														
17350.7		16336.8		16439.5		15695.2		17427.7		16311.2														
7969.5		7238		6968.5		8162		9971.5		11319														
10510.5		9394		8046.5		7777		7353.5		8085														
8855		9663.5		6275.5		7661.5		7931		11588.5														
9111.7		8765.2		7096.8		7866.8		8418.7		10330.8														
	19		8		11		20		4		5													
	16		7		28		16		5		4													
	11		24		8		59		7		12													
	15.3		13		15.7		31.7		5.3		7													
	41		22		21		28		18		30													
	35		28		21		31		19		24													
	21		42		13		27		23		21													
	32.3		30.7		18.3		28.7		20		25													
STATISTIK	r	σ _m	t	p	m	σ _m	t	p	m	σ _m	t	p	m	σ _m	t	p	m	σ _m	t	p	m	σ _m	t	p
St-1841P	0.083	0.0141	→ 16 Uhr 2.6134	→ 16 Uhr 0.04	0.079	0.026	--	--	0.0764	0.048	--	--	0.2008	0.0843	--	--	0.0307	0.012	→ 24 Uhr 3.6134	→ 24 Uhr 0.04	0.0433	0.0141	--	--
St-1842	0.754	0.062	→ 16 Uhr 2.8425	→ 16 Uhr 0.05	0.350	0.0436	--	--	0.2564	0.026	--	--	0.3646	0.0141	→ 16 Uhr 3.3342	→ 16 Uhr 0.025	0.2429	0.01	→ 24 Uhr 2.8425	→ 24 Uhr 0.05	0.2477	0.0332	--	--

I ♂ JUNG				II ♀ JUNG				III ♂ ALT				
G.Zz. (7700)		Z.		G.Zz. (7700)		Z.		G.Zz. (7700)		Z.		
Ma P m	25948.4	1202.6	→ IV 4.67	25733.4	819.8	15708	22.6					
Ma D m	2602.6	153.6	→ V 5.44	2964.4	64.4	2402.4	5.6					
Ma P-D m	22745.8	1049		22807.4	755.4	13305.6	17					
Ma E m	12219.9	971.4		12404.7	1181.6	5058.9	22.6					
M P m		123.8			98		7.4					
M E m		109.6			97.4		3.4					
Indices	m	σm	t	p	m	σm	t	p	m	σm	t	p
Mit. Ind. P	0.54	0.09	→ IV 4.67 → V 5.44	→ IV 0.009 → V 0.005	0.42	0.07	→ III 5.13 → IV 4.55	→ III 0.005 → IV 0.009	0.02	0.01	→ II 5.13	→ II 0.005
							→ V 5.65 → I 2.84	→ V 0.005 → I 0.0125			→ I 9.22 → II 12.98	→ I 0.005 → II 0.005
H ² -Ind. P	4.74	0.49	→ II 2.84 → III 9.22 → IV 9.24 → V 9.31	→ II 0.0125 → III 0.0005 → IV 0.0005 → V 0.0005		0.23	→ III 4.98 → IV 12.95 → V 13.15	→ III 0.005 → IV 0.0005 → V 0.0005	0.14	0.03		
			→ III 3.85 → IV 3.46 → V 3.61	→ III 0.0025 → IV 0.005 → V 0.002			→ III 7.50 → IV 6.42 → V 6.65	→ III 0.005 → IV 0.0005 → V 0.0005			→ I 3.85 → II 7.50	→ I 0.0025 → II 0.005
Mit. Ind. E	0.89	0.21			0.78	0.09			0.06	0.02		
H ² -Ind. E	7.94	1.41	→ IV 5.27 → V 5.03	→ IV 0.0005 → V 0.0005	9.32	1.25	→ IV 7.38 → V 6.88	→ IV 0.0005 → V 0.0005	0.44	0.18	---	---

IV ♀ ALT				V ♂ JUNG ALT			
G.Zz. (7700)		Z.		G.Zz. (7700)		Z.	
Ma P m	18878.4	21.2	15315.3	15.2			
Ma D m	2194.5	2.6	2132.9	1.2			
Ma P-D m	14683.9	18.6	13182.4	14			
Ma E m	7468	26.4	6800.7	45			
M P m		8.8		2.2			
M E m		10.2		7			
Indices	m	σm	t	p	m	σm	t
Mit. Ind. P	0.13	0.03	→ I 3.46 → II 6.42	→ I 0.005 → II 0.0005	0.10	0.04	→ I 3.61 → II 6.65
H ² -Ind. P	0.35	0.16	→ I 5.72 → II 7.38	→ I 0.0005 → II 0.0005	0.65	0.26	→ I 5.03 → II 6.88
Mit. Ind. P	0.05	0.03	→ I 4.67 → II 4.55	→ I 0.009 → II 0.009	0.01	0.01	→ I 5.44 → II 5.65
H ² -Ind. P	0.12	0.04	→ I 9.24 → II 12.95	→ I 0.0005 → II 0.0005	0.99	0.03	→ I 9.31 → II 13.15

Ma P	Markierte Parenchymzellen
Ma D	MaD Mark. doppelkernige Parenchymz.
Ma P-D	MaE Markierte Extraparenchymzellen
Ma E	ME Mitosen - Parenchymzellen
M P	G.Zz. Gesagte Zellzahl
M E	Z Gezühtete Zellen
	m Mittelwert
	σm Streuung
t	Verteilung nach Student
p	Wahrscheinlichkeit

TABELLE 5

Alters- und Geschlechtsunterschiede

MaP Markierte Parenchymzellen
 MaD Mark. doppalkernige Parenchymz.
 MaE Markierte Extrarenchymzellen
 MP Mitosen - Parenchymzellen
 ME Mitosen - Extrarenchymzellen
 G.Zz. Gezühtszahl
 Z Gezühte Zellen
 σm Mittelwert
 t Streuung
 p Verteilung nach Student
 Wahrscheinlichkeit

Tabelle 6

B. Mitosen

H A U T

I	2.0	3.26	→ II 2.131	→ II 0.05
II	8.2	1.415	→ IV 1.818	→ IV 0.05
III	2.8	1.64	--	--
IV	3.8	1.82	→ II 1.818	→ II 0.05
V	1.5	0.547	--	--

V O R M A G E N

I	18.4	7.76	--	--
II	18.2	3.35	--	--
III	12	5.48	→ IV 2.143	→ IV 0.05
IV	31.0	6.98	→ III 2.143	→ III 0.05
V	12.1	3	→ IV 2.203	→ IV 0.05

D R Ü S E N M A G E N

I	33	15.9	--	--
II	34.5	9.92	→ IV 3.058	→ IV 0.01
III	10	2.02	--	--
IV	6.8	2.26	→ II 3.058	→ II 0.01
V	10.2	0.83	--	--

Tabelle 6

A. Markierte Zellen.

H A U T

	m	Öm	t	p
I	17.4	5.26	→ II 4.38	→ II 0.001
II	61.8	9.3	→ IV 1.867	→ IV 0.05
III	18.6	6.07	→ V 1.805	→ V 0.05
IV	30.6	12.9	→ II 1.867	→ II 0.05
V	8	1.82	→ I 1.808	→ I 0.05

VORMAGEN

	m	Öm	t	p
I	124	22.2	--	--
II	143.2	18.8	→ IV 2.23	→ IV 2.23
III	91.2	20.7	→ IV 4.055	→ IV 0.009
IV	204.4	19.35	→ III 4.055	→ III 0.009
V	122	27.2	--	--

D R Ü S E N M A G E N

I	260.4	39.5	→ III 3.034	→ III 0.01
II	299	9.51	→ IV 5.881	→ IV 0.005
III	117.2	25.7	→ I 3.034	→ I 0.01
IV	93.4	29.9	→ II 5.881	→ II 0.0005
V	96	10.6	→ I 4.014	→ I 0.002

I Junge männl. Tiere
II Junge weibl. Tiere
III Alte männl. Tiere

IV Alte weibl. Tiere
V Uralte männl. Tiere

	Nr.	G.Zz.(77oG)	Z	Nr.	G.Zz.(77oG)	Z	Nr.	G.Zz.(77oG)	Z	Nr.	G.Zz.(77oG)	Z	Nr.	G.Zz.(77oG)	Z	Nr.	G.Zz.(77oG)	Z	Nr.	G.Zz.(77oG)	Z							
Ma P	1	16670.5	9	4	17325	5	13	19365.5	1	16	18711	10	19	18133.5	4	919	19635	2	928	18903.5	12							
	2	19365.5	39	5	19635	26	14	17517.5	8	17	19057.5	3	20	16863	1	920	19019	4	929	14437.5	2							
	3	18826.5	1	6	19365.5	2	15	17710	4	18	19096	8	21	16247	6	921	16978.5	7	930	18095	5							
	m	18287.5	16.3	m	18775.1	11	m	18197.7	4	m	18954.8	7	m	17081.1	3.7	m	18544.1	4.3	m	17145.3	6.3							
Ma D	1	2618	-	4	2964.5	-	13	3118.5	-	16	2772	-	19	2080	-	919	3118.5	0	928	2618	1							
	2	2810.5	9	5	3773	5	14	2733.5	-	17	3003	-	20	2926	-	920	3311	2	929	2502.5	0							
	3	3003	-	6	3234	-	15	2579.5	-	18	2541	-	21	1963.5	-	921	2772	0	930	2733.5	1							
	m	1909.6	3	m	3323.8	1.6	m	2810.5	-	m	2772	-	m	2656	-	m	3067.1	0.6	m	2618	0.6							
Ma P-D	1	14052.5	6	4	14360.5	5	13	16247	1	16	15939	10	19	15053.5	4	919	16591.5	2	928	16285.5	11							
	2	16555	30	5	15862	21	14	14784	8	17	16054.5	3	20	13937	1	920	15708	2	930	11935	2							
	3	15823.5	4	6	16131.5	2	15	15130	4	18	16555	8	21	14283	6	921	14206.5	7	930	15361.5	4							
	m	15477	13.3	m	15431.3	7.3	m	15387	4	m	16182.5	7	m	14424.5	3.7	m	15477	3.6	m	14527.3	5.6							
Ma E	1	5813.4	134	4	6083	50	13	9586.5	46	16	8431.5	32	19	7238	65	919	10048.5	69	928	9586.5	1							
	2	9702	62	5	7738.5	76	14	8778	98	17	8662.5	66	20	6660.5	5	920	8701	71	930	8739.5	3							
	3	9240	31	6	7854	33	15	7507.5	8	18	7353.5	62	21	7122.5	64	921	7623	100	930	7001.5	22							
	m	8251.8	75.6	m	7225.1	53	m	8624	50.6	m	8149.1	53.3	m	7007	44.7	m	8790.8	82	m	8062.5	47.3							
M P	1		8	4		4	13		8	16		3	19		5	919		18	928		12							
	2		13	5		16	14		6	17		2	20		4	920		9	929		1							
	3		5	6		5	15		2	18		3	21		2	921		0	930		11							
	m		8.6	m		8.3	m		5.2	m		2.6	m		3.3	m		11	m		11.0							
M E	1		41	4		22	13		15	16		23	19		19	919		24	928		31							
	2		26	5		27	14		28	17		23	20		17	920		20	929		27							
	3		15	6		11	15		10	18		20	21		21	921		20	930		33							
	m		27.3	m		20	m		17.7	m		22	m		19	m		26.3	m		30.3							
Indices	m	m	t	p	m	m	t	p	m	m	t	p	m	m	t	p	m	m	t	p	m	m	t	p				
MitIndP	0.055	0.01	3.35	0.01	0.053	0.024	--	--	0.033	0.01	--	--	0.016	0.002	--	--	0.022	0.008	--	--	0.071	0.02	2.62	0.023	0.079	0.014	--	--
H ³ -IndP	0.089	0.059	--	--	0.058	0.038	--	--	0.021	0.01	--	--	0.036	0.017	--	--	0.021	0.01	--	--	0.023	0.014	--	--	0.036	0.017	--	--
MitIndE	0.342	0.19	--	--	0.276	0.022	--	--	0.202	0.323	--	--	0.269	0.008	--	--	0.27	0.01	--	--	0.299	0.020	--	--	0.349	0.031	2.33	0.004
H ³ *IndE	1.092	0.612	--	--	0.733	0.234	--	--	0.567	0.293	--	--	0.656	0.141	--	--	0.63	0.274	--	--	0.963	0.217	2.84	1.0027	0.315	0.002	2.19	0.05

TABELLE 7

Chronische Phenobarbitalbehandlung
- Kurzzeitversuche -

1 - 3 NaCl i.p. 24 Stunden
4 - 6 Na₂HPO₄ p.o. 20 Tage
13-15 Phenobarbital p.o. 20 Tage
16-18 Kontrolle
19-21 Halothan 1% 20 Tage
919-921 Na₂HPO₄ p.o. 5 Tage
928-930 Na₂HPO₄ p.o. 10 Tage

Ma P Markierte Parenchymzellen
Ma D Markierte doppelkernige Parenchymzellen
Ma E Markierte Extraparenchymzellen
M P Mitosen Parenchymzellen
M E Mitosen Extraparenchymzellen

	Nr.	G.Zz. (770g)	Z		Nr.	G.Zz. (770g)	Z		Nr.	G.Zz. (770g)	Z		Nr.	G.Zz. (770g)	Z	
Ma P	501	17485.5	244		504	15156	99		507	17055.5	72		510	16457	201	
	502	18354.5	245		505	15900	154		508	16242.5	85		511	16457	164	
	503	17899	291		506	15665	187		509	17861	296		512	17042	262	
	m	17913	200		m	15573.6	150		m	17053	151		m	16552	209	
Ma D	501	2432	67		504	1912	15		507	2055	13		510	4368	59	
	502	4687	82		505	4350	37		508	3421	27		511	3906	33	
	503	3462	112		506	1501	53		509	1312	63		512	3875	92	
	m	3527	87		m	2587.6	35		m	2262	34		m	4049.6	-	
Ma P - D	501	15053.5	117		504	13244	84		507	15000.5	59		510	12089.0	142	
	502	13667.5	163		505	11550	127		508	13821.5	58		511	12551	131	
	503	14437	179		506	14164	134		509	16549	233		512	13167	170	
	m	14586	173		m	12986	115		m	14123.6	116.6		m	12602	147.6	
Ma E	501	9094.5	146		504	7661	70		507	8431	133		510	8431	64	
	502	7700	172		505	8162	58		508	7623	148		511	8585.5	75	
	503	7315	141		506	7199	96		509	8508	315		512	7161	92	
	m	8305	153		m	7674	14.6		m	8187.3	198.6		m	8059.1	77.3	
Ma F	501		17		504		2		507		33		510		23	
	502		11		505		17		508		19		511		22	
	503		11		506		5		509		47		512		9	
	m		14.6		m		8		m		33		m		18	
Ma G	501		11		504		7		507		26		510		20	
	502		16		505		14		508		11		511		21	
	503		16		506		16		509		19		512		17	
	m		11		m		13.2		m		18.6		m		19.5	
INDICES	m	σ_m	t	p	m	σ_m	t	p	m	σ_m	t	p	m	σ_m	t	p
Mit-I.F	0.133	0.031	--	--	0.065	0.04	--	--	0.213	0.0317	--	--	0.144	0.031	--	--
Mit-Ind.P	1.451	0.089	2.847	0.025	0.959	0.158	2.273	0.05	0.867	0.395	2.147	0.05	1.251	0.155	2.629	0.03
Mit-Ind.E	0.246	0.028	--	--	0.61	0.0317	--	--	0.225	0.044	--	--	0.239	0.001	--	--
Mit-Ind.E	1.078	0.219	4.645	0.005	0.985	0.1815	--	--	2.406	0.656	2.596	0.03	0.976	0.164	--	--

TABELLE 8

m = Mittelwert

σ_m = Streuung

t = Verteilung nach Student

p = Wahrscheinlichkeit

Nr.	G.Zz. (770 g)	Z	Nr.	G.Zz. (770g)	Z	Nr.	G.Zz. (770 g)	Z			
513	16063.5	108	516	16679.5	63	16	18711	10			
514	17112	89	517	16211.5	39	17	19057.5	3			
515	16201	83	518	18174.5	23	18	19096	8			
m	16458.8	92.3	m	17021.8	41.6	m	18954.8	7			
513	5553	19	516	2550	17	16	2772	-			
514	4137.5	11	517	5316	6	17	3003	-			
515	1725	2	518	1350	9	18	2541	-			
m	3805.16	10.6	m	3072	10.6	m	2772	-			
513	10510.5	89	516	14129.5	46	16	15939	10			
514	12974.5	88	517	10895.5	33	17	16054.5	3			
515	14476	81	518	16824.5	14	18	16555	8			
m	12652.66	86	m	13949.8	31	m	16182.5	7			
513	6503.5	48	516	6391	149	16	8431.5	32			
514	6660	31	517	6198.5	77	17	8662.5	66			
515	7738.5	31	518	8662.5	125	18	7353.5	62			
m	6994	36.6	m	7084.0	177	m	8149.1	52.3			
513		7	516		3	16		3			
514		3	517		7	17		2			
515		5	518		1	18		3			
m		5	m		3.6	m		2.6			
513		11	516		19	16		23			
514		31	517		10	17		23			
515		13	518		12	18		20			
m		8.3	m		13.6	m		22			
m	G m	t	p	m	G m	t	p	m	G m	t	p
0.041	0.01	--	--	0.03	0.0173	--	--	0.016	0.002	--	--
0.568	0.0447	--	--	0.247	0.0707	--	--	0.036	0.017	--	--
0.266	0.03	--	--	0.198	0.0447	--	--	0.269	0.008	--	--
0.531	0.1	--	--	1.672	0.333	2.785	0.025	0.661	0.141	--	--

Chronische Phenobarbitalbehandlung - Kurzzeitversuche -

501-503 Phenobarbital p.o. 24 Std 510-512 Phenobarbital p.o. 48 Std.
504-506 Phenobarbital i.p. 24 Std 513-515 Phenobarbital i.p. 48 Std.
507-509 Na_2HPO_4 i.p. 24 Std 516-518 Na_2HPO_4 i.p. 48 Std.
16-18 Kontrolle

